

---

# ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

---

## CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'ACTION DU SÉRUM DE BŒUF ET DU SÉRUM DE CHEVAL SUR LE CŒUR ISOLÉ DU COBAYE

par L. LAUNOY

### I

#### ACTION DU SÉRUM DE CHEVAL ET DU SÉRUM DE BŒUF SUR LE CŒUR ISOLÉ D'ANIMAUX NORMAUX

L'étude de l'action des sangs et des sérums hétérogènes sur le cœur isolé des vertébrés a déjà fait l'objet de nombreuses recherches. Dans cet ordre d'investigations le cœur isolé du cobaye n'a pas été utilisé d'une façon systématique, en raison de la facilité avec laquelle il entre en trémulations fibrillaires et meurt, peu de temps après sa sortie de l'organisme. Préoccupé d'élucider quelques points particuliers de la physiologie du cœur chez les animaux rendus immuns ou hypersensibles à des substances déterminées, j'ai été conduit à entreprendre l'étude méthodique de l'action de ces deux sérums sur le cœur normal de cobaye.

Le cœur de cobaye s'imposait à moi comme objet d'expérimentation; on sait en effet que le cobaye représente l'animal de laboratoire éminemment propice à l'étude de certains problèmes de l'immunité, celui de l'anaphylaxie par exemple.

Dans cette étude j'ai utilisé (sauf mention spéciale) des

sérums frais provenant de l'exsudat du caillot de coagulation, et non pas de la défibrination du sang.

#### TECHNIQUE.

Voici comment je pratique l'isolement du cœur. L'animal est saisi dans la main gauche; avec le pouce on tient la tête rejetée en arrière; avec l'index on récline à gauche la trachée; il faut éviter soigneusement d'oblitérer cet organe; le cœur des animaux morts en asphyxie est le plus souvent arrêté, il est gorgé de sang, il ne reprend que difficilement ses contractions (1). A travers une incision latérale pratiquée d'un coup de ciseau, on va à la recherche de la carotide droite, on l'isole avec un passe-fil ou une sonde, on la sectionne. Quand l'animal n'accuse plus de soubresauts agoniques on le porte sur un plateau à dissection; il ne faut pas attendre. On fait sauter le plastron sternocostal en évitant de léser le péricarde. On se débarrasse du thymus, on met le cœur et l'aorte à nu; sous l'aorte on passe un fil d'attente. Par une boutonnière faite à l'aorte, on introduit une petite canule en rapport par un tuyau de caoutchouc avec un entonnoir contenant de l'eau physiologique chaude (35°-37°). Tout ce système a été purgé d'air au préalable. Sur le trajet du tuyau de caoutchouc se trouve une pince de Mohr qui permet à volonté l'écoulement ou l'arrêt de l'eau salée contenue dans l'entonnoir. Pendant l'introduction de la canule dans l'aorte, on laisse s'écouler l'eau physiologique; on évite ainsi la formation d'embolies gazeuses dans le système coronaire. La canule étant en place, on la fixe au moyen du fil d'attente; on sectionne la veine cave inférieure et l'artère pulmonaire; on laisse encore écouler l'eau salée de façon à bien laver le cœur. Ceci fait, on détache l'organe en ayant soin de ne pas léser les oreillettes. Le cœur est alors porté sur l'appareil de perfusion, prêt à fonctionner, et réglé de façon à ce que le liquide arrive sous une pression égale à 2 cent. de Hg; la

(1) MAC GUIRE et KRONECKER puis SALTET (1905) ont démontré l'action nuisible de CO<sup>2</sup> sur le cœur. SALTET a vu que le sang asphyxique arrête le cœur de grenouille. L'acide carbonique rendrait les albumines du sérum impropres à nourrir le cœur.



température sera de 37 degrés. Avec un peu d'habitude l'isolement d'un cœur de cobaye et sa fixation sur l'appareil à perfuser n'exigent pas plus de cinq à six minutes.

Comme liquide de perfusion on se sert du liquide de Ringer-Locke.

En rapport avec ce liquide le cœur bat vigoureusement et irrégulièrement tout d'abord, puis il se ralentit et se met en régime régulier.

Comme appareil de perfusion je me suis servi de l'excellent appareil du professeur Pachon [4] (\*).

Les meilleurs résultats seront obtenus par l'emploi du cœur de jeunes animaux (de 300 à 400 grammes); chez les animaux âgés on trouve souvent des lésions de l'aorte et du péricarde.

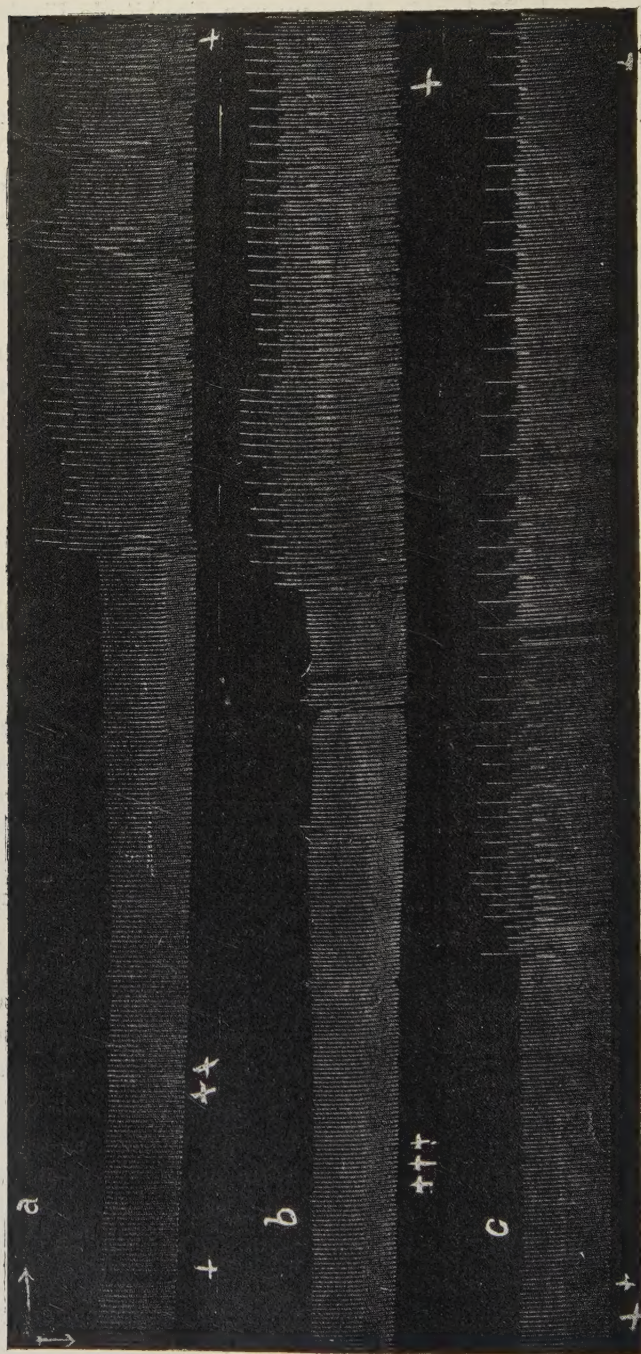
#### ACTION DU SANG TOTAL ET DU SÉRUM DE BŒUF SUR LE CŒUR ISOLÉ DU COBAYE.

Les résultats de ces recherches peuvent être énoncés sous la forme de conclusions dont les tracés annexés à ce mémoire font la preuve. J'ai pu constater que :

1° Le liquide de Ringer-Locke ( $\text{NaCl}$  8,50;  $\text{CaCl}_2$  anhydre 0,20;  $\text{KCl}$  0,20;  $\text{HCO}_3\text{Na}$  0,20; glucose 1 gramme, eau distillée 1.000 centimètres cubes) oxygéné ou non est insuffisant à entretenir les battements d'un cœur isolé de cobaye. Dans les conditions spécifiées ci-dessus le cœur isolé de cobaye peut survivre en Ringer-Locke quinze à vingt minutes, exceptionnellement trente minutes;

2° L'addition au liquide de Ringer-Locke de 2,5 p. 100 à 5 p. 100 de son volume de sang de bœuf frais, défibriné et filtré (sur coton de verre) permet au cœur de battre longtemps. Le sang de bœuf renforce l'amplitude des contractions d'un cœur non épuisé; l'amplitude passe de 1 à 2, elle atteint son optimum très rapidement (tracé I); mais ce renforcement s'accompagne d'arythmie. Cette arythmie est des plus nettes dans les trois lignes a) b) et c) du tracé I, elle peut revêtir la forme de groupes de Lucciani encore que la période de repos

(\*) Les chiffres entre crochets se rapportent à l'index bibliographique.



TRACÉ I. — 49 novembre 1910. Action du sang total de boeuf sur le cœur isolé de cobaye.

a) En + le cœur est perfusé par du liquide de Ringer-Locke; en ++ on fait passer du Ringer-Locke additionné de 5 p. 100 de sang total de boeuf. Action tonique manifestée par l'augmentation d'amplitude des contractions, l'irrégularité de celles-ci, leur caractère dicrotique. — b) Le cœur est remis en Ringer-Locke; en +++ on fait passer Ringer-Locke additionné de 5 p. 100 de globules non lavés de boeuf. — c) Groupe de Lucciani pendant le passage de Ringer-Locke additionné de sang total.

Vitesse du cylindre : 1 centimètre en dix secondes.



diastolique soit peu prononcée entre chacun des groupes de contractions régulières. La même modification s'observe dans le tracé II (lignes *b* et *c*), c'est là un fait constant avec le *sang total* de bœuf. La modification la plus ordinaire consiste dans le microtisme des contractions ;

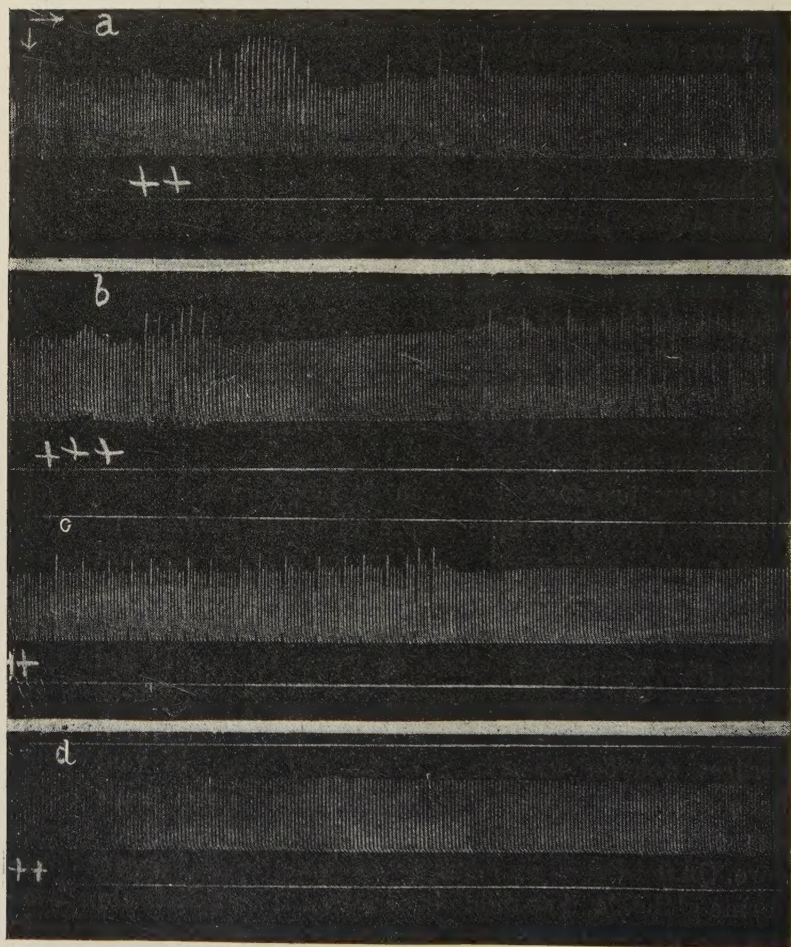
3° Le *sérum* de bœuf ajouté au liquide de Ringer-Locke se montre renforçant, mais son action tonique est inférieure à celle du sang total ; de plus, elle est de courte durée ; par contre, le rythme des contractions reste le plus souvent très régulier (tracé II, ligne *d*), leur forme est tout à fait normale.

Un cœur épuisé par une perfusion suffisamment prolongée en liquide de Ringer-Locke peut récupérer une notable énergie par le passage de Ringer-Locke additionné de sérum de bœuf. On voit un exemple probant de ce fait dans le tracé III (ligne *b*) ; toutefois, notons que le cœur ne retrouve pas habituellement son énergie initiale.

Le passage prolongé de sérum de bœuf n'est d'ailleurs pas indifférent ; l'action toxique propre du sérum peut être mise en évidence par l'affolement subit du cœur. Cet affolement se manifeste par une multiplication considérable du nombre des contractions qui sont courtes, souvent microtiques et alternantes, par une augmentation du tonus tel que le style inscripteur est violemment ramené vers le cœur ; celui-ci, pendant de telles périodes, reste en contraction forcée. De tels désordres peuvent aboutir à l'arrêt du cœur ; le ventricule gauche s'arrêtant toujours en premier lieu, le ventricule droit et les oreillettes peuvent continuer à battre quelque temps encore. Quand l'arrêt du cœur ne se produit pas, l'organe perd sa forme globoïde, il se dilate et se ralentit ; on assiste alors à la formation de contractions d'amplitude normale que séparent une longue pause diastolique (1<sup>re</sup> partie de la ligne *c*, tracé III). Le cœur peut reprendre son rythme normal ou manifester une nouvelle période d'exagération du tonus. Entre deux périodes de contractions courtes et augmentées, on peut observer un véritable tétanos cardiaque, caractérisé sur le tracé par une ligne de contractions extrêmement courtes et si nombreuses qu'elles sont sur le tracé indissociables les unes des autres.

Ce sont bien là des phénomènes d'intoxication ; si l'on peut

passer à temps du liquide de Ringer-Locke pur, le cœur peut reprendre un régime normal ;



TRACE II. — 16 décembre 1910. Action du sérum de bœuf.

a) Le cœur est en Ringer-Locke: en ++ on perfuse avec Ringer-Locke additionné de 5 p. 100 de sérum de bœuf; remarquer l'action tonique sans arythmie. Le cœur étant toujours en ++ on passe en +++ (Ringer-Locke + 5 p. 100 sang total), immédiatement accroissement de l'amplitude et arythmie. Une perfusion de quatre minutes en Ringer-Locke diminue le cœur sans le régulariser. Le passage en ++ (c) régularise au contraire les contractions.

Vitesse: du cylindre : 1 centimètre en dix secondes.



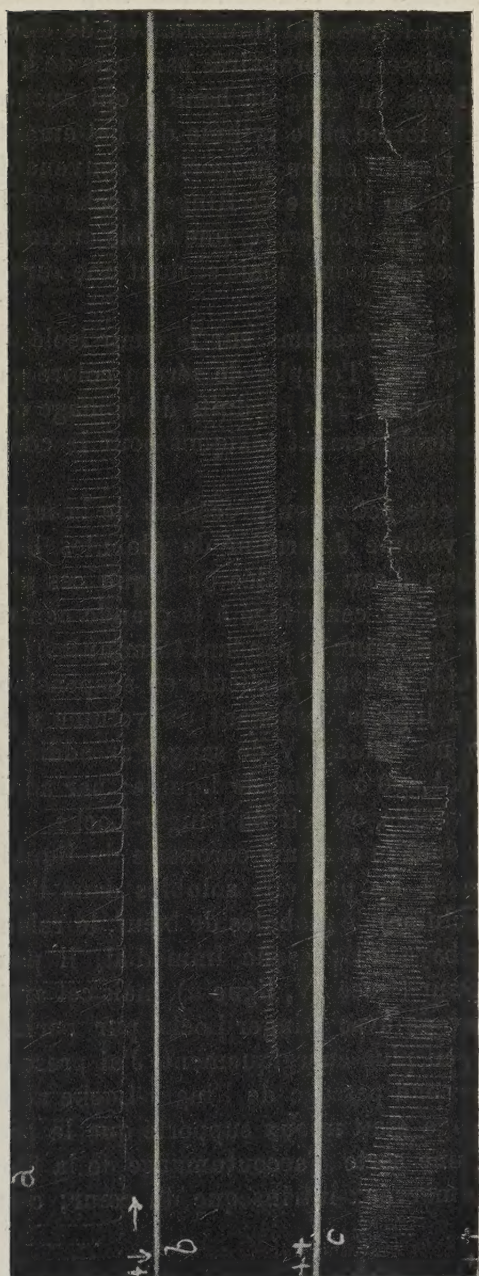


TABLEAU III. — 12 décembre 1910. *Action du sang de bœuf.*

En a) épuisement progressif du cœur pendant sa perfusion avec Ringer-Locke; en ++ le cœur très petit, très rare reprend son rythme et l'amplitude de ses battements; grâce au passage de Ringer-Locke additionné de 5 p. 100 de sang total de bœuf.

En c) le cœur qui depuis dix minutes était en ++ (5 p. 100 sang total) présente des périodes de contractions à rythme alternant (une grande contraction, une petite), séparées par des périodes de véritable tétnanos musculaire pendant lesquelles le cœur diminué de volume reste contracturé.

Vitesse du cylindre : 1 centimètre en quatorze secondes.

4° A moins d'être ajoutés en concentration trop élevée (5 p. 100 par exemple) dont le résultat immédiat est de diminuer la perméabilité des vaisseaux coronaires par suite de leur stase, les globules bien lavés du sang de bœuf n'ont aucune influence importante sur la forme et le rythme des battements du cœur isolé de cobaye. L'addition en proportion convenable (1 p. 100) de globules lavés au liquide de Ringer-Locke est le plus souvent avantageuse. On peut observer une faible augmentation de l'amplitude des contractions, mais surtout une survie plus longue du cœur;

5° Dans l'étude de l'action des sérums sur le cœur isolé du cobaye il faut avoir soin d'éviter l'emploi de sérum coloré par la matière colorante des globules. Les produits de laquage des globules sont en effet particulièrement toxiques pour le cœur de cobaye.

Nous avons déterminé cette action en procédant de la façon suivante : on prend un volume déterminé de globules bien lavés de bœuf; par addition d'eau distillée on laque ces globules; le liquide de laquage est centrifugé à la grande centrifuge de Jouan (4.500 tours par minute, pendant 45 minutes) (1); on débarrasse ainsi le liquide de toute particule en suspension, on décante. On a alors un liquide contenant un volume  $v$  de globules correspondant à un volume  $V$  de sang. Par addition d'eau on complète jusqu'à 1.000 ou plus de liquide; par addition à ce liquide des sels voulus, on fait du Ringer-Locke.

Quand on fait circuler dans le système coronaire du liquide de Ringer-Locke contenant les produits solubles dans l'eau distillée de 5 p. 100 (en volume) de globules de bœuf, le ralentissement du cœur de cobaye est presque immédiat, il peut aller jusqu'à l'arrêt du cœur (tracé IV, ligne  $a$ ), mais cet arrêt n'est pas définitif; un lavage avec Ringer-Locke pur permet au cœur de rebattre un peu plus énergiquement. J'ai presque toujours observé qu'un second passage de Ringer-Locke additionné de liquide de laquage était mieux supporté que le premier; il y aurait ainsi une sorte d'accoutumance de la fibre cardiaque et du système nerveux intrinsèque du cœur; cette

(1) Je remercie M. JOUAN de la complaisance avec laquelle il a bien voulu mettre cet appareil à ma disposition.



accoutumance serait très rapidement établie (Tracé IV, ligne *b*). Pourtant, même dans ce cas, l'action toxique du liquide est très nette, elle se manifeste par un ralentissement du cœur qui bat en périodes de Lucciani, tout à fait typiques (groupe de contractions séparées par une longue pause diastolique). Il faut rapprocher cette action spéciale des produits de laquage globulaire, générateurs d'arythmie, de l'action du sang total, elle aussi caractérisée par de l'arythmie et du dicrotisme.

Le cœur de lapin est beaucoup moins sensible que le cœur de cobaye aux produits globulaires inhibiteurs, solubles dans l'eau distillée (Tracé IV, ligne *c*).

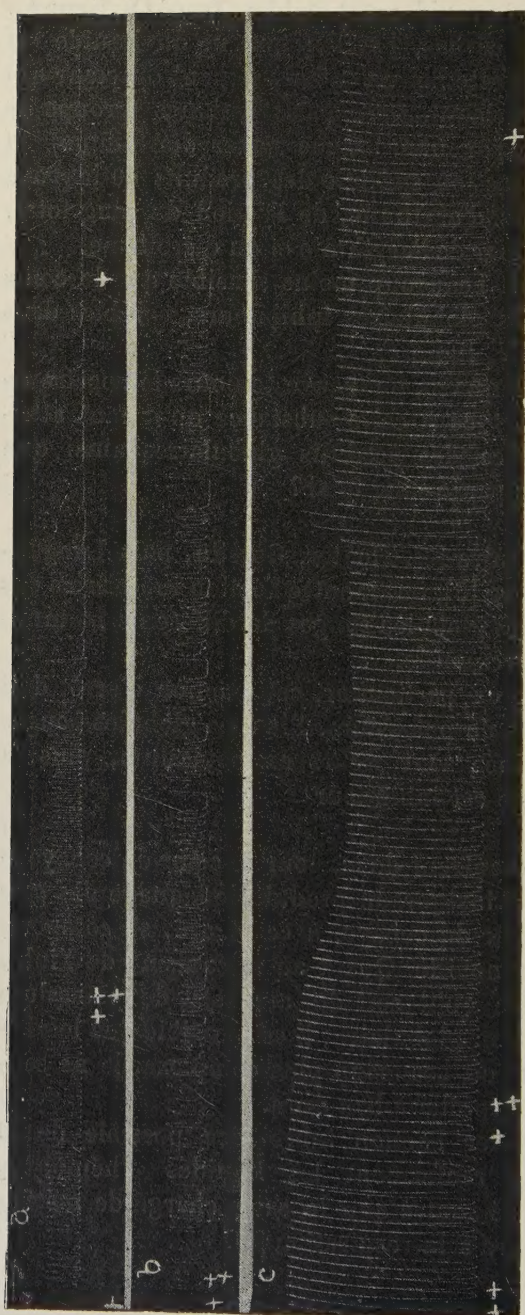
Dans le liquide de laquage, on trouve toujours le spectre de la méthémoglobine. Est-ce à cette substance qu'il faut attribuer l'action inhibitrice des produits globulaires ainsi que l'arythmie déterminée par le sang total ?

Kronecker et Mac Guire [3], Heffter, Gosslin, puis Langendorff [4] et Brandenburg [5], ont montré l'action inhibitrice des liquides de laquage des globules rouges de différents mammifères sur le cœur de grenouille.

Pour Brandenburg, en particulier, cette action d'arrêt doit être attribuée aux sels de potassium. Plus les globules rouges d'une espèce déterminée sont riches en potassium, plus le liquide de leur laquage est inhibiteur.

Mes recherches démontrent donc, pour le cœur de cobaye et celui de lapin, l'action toxique du produit de laquage des globules de bœuf. Le cœur du cobaye, à cet égard, se comporte comme celui de la grenouille. Quant au mécanisme de l'inhibition, il est possible qu'il soit dû aux sels de potassium libérés par la destruction globulaire; il est possible que le phénomène dont il s'agit soit beaucoup plus complexe, je ne saurais actuellement l'interpréter à bon droit.

On ne saurait rejeter l'action inhibitrice possible de la méthémoglobine que renferment les liquides d'hémolyse, Marcel Labbé ayant démontré que le sang chargé de méthémoglobine est impropre à la respiration [6].



TRACÉ IV. — 25 novembre 1910. Action inhibitrice du liquide de laquage des globules rouges de bœuf sur le cœur isolé.

a) *Cœur de cobaye*. — En + le cœur est en Ringer-Locke. En +++ on fait passer Ringer-Locke additionné de liquide du laquage de globules. Ce liquide est ainsi défini : on prend 50 centimètres cubes de sang de bœuf; on sépare les globules, on les lave, on les laque dans l'eau distillée, on centrifuge; on ajoute de l'eau distillée de façon à faire 1,000 centimètres cubes; avec ce liquide on compose du Ringer-Locke par addition des sels nécessaires.

b) Après lavage du cœur en +, un second passage de +++ ne produit pas un ralentissement aussi prononcé qu'en a). Cœur périodique avec pulsations à rythme alternant, microtisme de la première contraction.

c) *Cœur de lapin*. — Sous la même influence le cœur de lapin subit une diminution de l'amplitude de ses battements, leur nombre se réduit, mais pas de ralentissement comparable à ce qui se passe avec le cœur de cobaye.



## ACTION DU SÉRUM DE CHEVAL SUR LE CŒUR ISOLÉ DU COBAYE.

D'une façon générale, on retrouve avec le sérum de cheval les phénomènes observés avec le sérum de bœuf; mais si le sens des actions observées est le même dans les deux cas, il convient de faire remarquer de suite qu'avec le sérum de cheval tous les phénomènes notés avec le sérum de bœuf sont amplifiés.

Nous pouvons conclure que :

1° *L'action du sérum de cheval (sérum frais) agissant sur la fibre musculaire cardiaque est une action tonique.* Cette action tonique s'observe avec des doses égales à 1 p. 100; avec 0,5 p. 100, les modifications apportées au fonctionnement du cœur perfusé avec du liquide de Ringer-Locke sont sensiblement nulles; elles sont très apparentes avec la proportion de 2 p. 100 et atteignent leur maximum avec 5 p. 100. Au-dessus de cette dose, l'action tonique n'est pas plus accentuée, l'action toxique apparaît.

Si l'on veut tirer de cette étude une indication sur le taux de sérum de cheval favorable à la survie du cœur isolé de cobaye, il faut retenir que la proportion de 5 p. 100 est la plus efficace. C'est évidemment là une dose considérable, en apparence; elle m'a paru nécessaire;

2° *L'action du sérum de cheval est très rapide.* Dès le contact du sérum avec la cellule musculaire, les contractions augmentent d'amplitude et de nombre; pendant les premiers moments de l'action le cœur est régulier, puis devient arythmique. Un cœur épuisé en Ringer-Locke (tracé V, ligne *a* et tracé VII, ligne *a*) récupère son énergie première et la dépasse de beaucoup avec du sérum de cheval dilué à 5 p. 100 dans du Ringer-Locke;

3° *D'une façon habituelle l'action tonique est de courte durée;* la durée de cette action est d'autant plus courte que la concentration en sérum est plus élevée. Avec les concentrations de 15 p. 100 et 25 p. 100 (tracé IX, ligne *a*, et tracé IX *bis*), cette règle ne souffre pas d'exception. Cependant, il faut spécifier



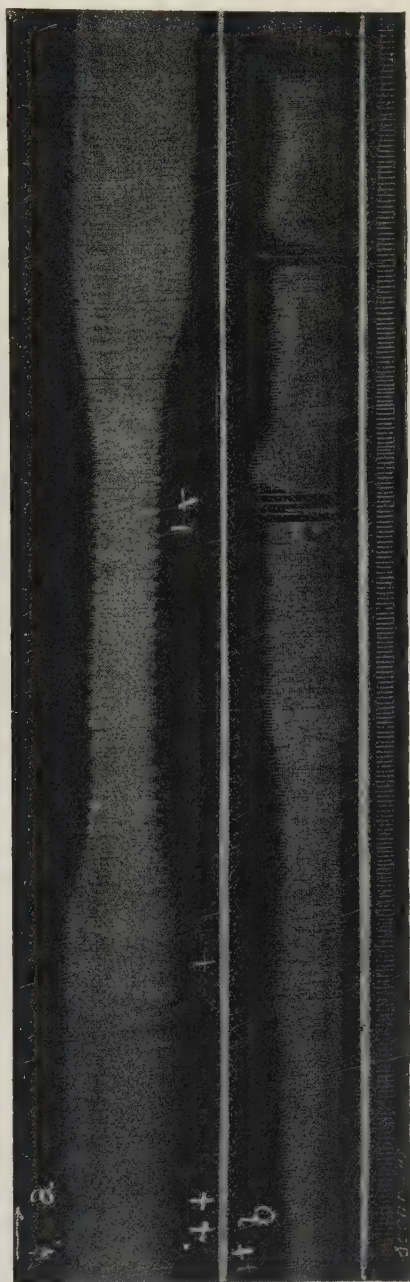
TRACÉ V. — 31 mars 1914. Action du sérum de cheval sur le cœur isolé de cobaye.

*a.* Le cœur s'épuise en Ringer-Locke. — En ++ on fait passer Ringer-Locke additionné de 5 p. 100 de sérum de cheval. Action tonique; arythmie-rythme alternant (une grande contraction, une petite et ainsi de suite).  
*b.* Autre cœur. — Sur ce cœur l'action de ++ est moins nette que dans le cœur en *a*). Tout à coup affaiblissement du cœur. Systoles très courtes, très nombreuses; cœur contracté, globuleux. Le cœur s'arrête en systole.



qu'à ces fortes concentrations l'action stimulante du sérum n'est pas toujours aussi fugace que pourraient le faire croire les tracés que nous présentons ici. En certains cas, l'action tonique se maintient avec une parfaite constance pendant dix et quinze minutes. Il y a là des différences individuelles difficiles à expliquer, puisque dans ces expériences deux facteurs sont toujours variables: le cœur d'une part, le sérum de l'autre.

Quand je dis que l'action tonique du sérum de cheval est de courte durée, je veux entendre par là que la phase pendant laquelle l'amplitude des contractions et leur nombre sont augmentés à la fois est de courte

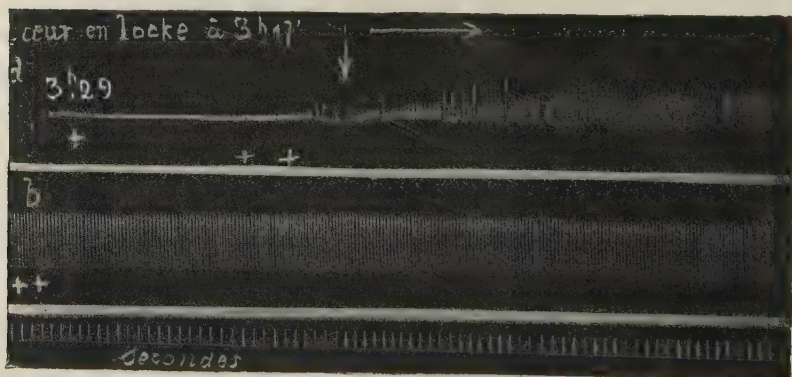


TRACÉ VI. — 6 avril 1914. Action du sérum de cheval.

a) En +++ le cœur est en Ringer-Locke additionné de 45 p. 100 de sérum de cheval. En + on passe en Ringer-Locke pur.  
b) Le cœur s'épuise en Ringer-Locke. On fait passer +++; l'action du sérum se manifeste, mais le cœur se fatigue et devient périodique.

durée. Mais il faut observer que la diminution du nombre des contractions ne coïncide pas avec la diminution de l'amplitude.

Il faudrait donc dire plus justement : Dans l'action excitante du sérum de cheval sur le cœur isolé, on peut le plus souvent distinguer deux phases. Pendant la première, le cœur s'accélère, l'amplitude des contractions est augmentée; pendant la seconde, l'amplitude des contractions redevenant normale ou même inférieure à la norme, leur nombre reste toutefois supérieur à la normale et peut même être progressivement crois-



TRACÉ VII. — 11 avril 1911. Action du sérum de cheval.

a) En + le cœur est en Ringer-Locke; il est perfusé depuis 3 h. 17. A 3 h. 29, on fait passer ++, c'est-à-dire Ringer-Locke additionné de 25 p. 100 de sérum de cheval. Courtes périodes; puis rythme régulier.

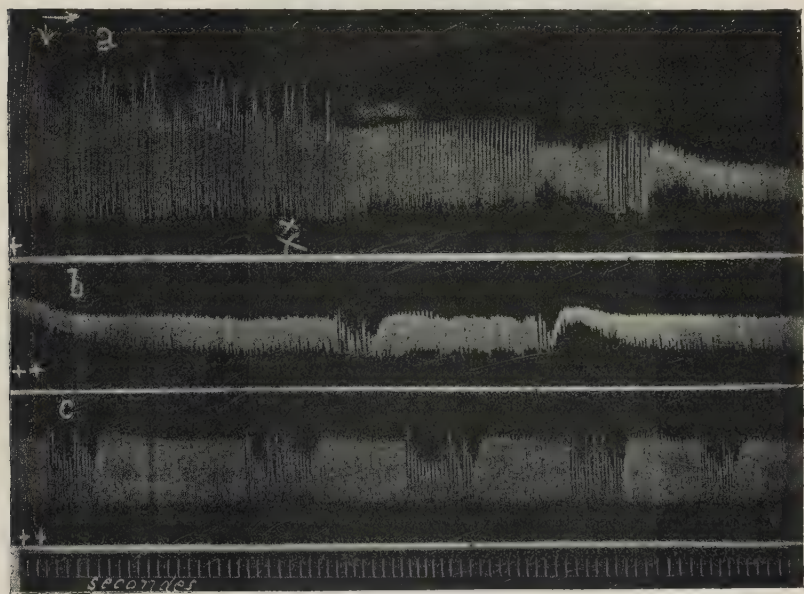
b) Le même cœur, après vingt-cinq minutes de survie en ++.

sant. La première phase est de courte durée; la seconde peut au contraire se maintenir longtemps; elle peut aboutir soit à un état de fatigue caractérisé par des périodes alternatives de lenteur et de rapidité des contractions cardiaques, soit enfin à un état d'hypertonie intense. Ce dernier état se manifeste par des systoles très courtes, incomplètes, extrêmement nombreuses et dont la ligne d'inscription s'élève subitement au-dessus du niveau normal.

Objectivement, un tel état est représenté par les tracés VIII, IX et X; il peut conduire à un arrêt rapide du cœur, par suite vraisemblablement de l'insuffisance des diastoles.



Ce rythme spécial caractérise sans aucun doute une profonde intoxication de la fibre cardiaque et du système nerveux propre du cœur; il coïncide avec un stade d'hyperexcitabilité (à l'excitation électrique) du cœur. Il peut survenir longtemps (quinze à trente minutes et plus après le début de l'expérience.



TRACÉ VIII. — 11 avril 1911. *Action du sérum de cheval.*

a) En + le cœur est en Ringer-Locke. En ++ on fait passer Ringer Locke additionné de 10 p. 100 de sérum de cheval.

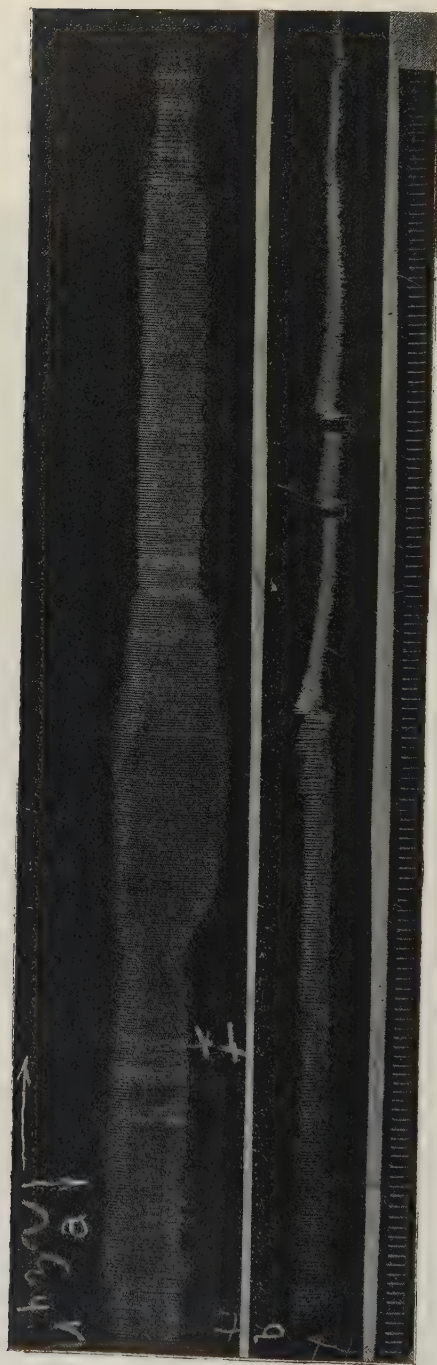
b) On observe de l'augmentation du tonus; mais le cœur ne s'arrête pas.

c) Le même cœur vingt et une minutes après le début de l'expérience pendant laquelle on a fait passer alternativement du Ringer-Locke pur, du Ringer-Locke + (10 p. 100 de sérum ++) et de Ringer-Locke + 25 p. 100 de sérum).

Le cœur est depuis huit minutes en ++; il devient périodique; il garde ce rythme jusqu'au moment où l'on interrompt l'expérience.

Il peut également s'observer quelques instants après le passage du sérum, l'intoxication étant alors atteinte d'emblée tracé V, ligne b) (1).

(1) Je signale que Lussana (*Comptes rendus de la Soc. de Biol.*, 1903, p. 1050, 13 juin) a vu que l'excitabilité du cœur de *grenouille* à l'excitation électrique est plus grande en présence de sérum qu'en présence de différentes solutions salines.



Tracé IX. — *Action du sérum de cheval.*

- a) Le cœur est en Ringer-Locke. On passe avec ++ en Ringer-Locke additionné de 25 p. 100 de sérum. Cœur renforcé, puis devient petit, irrégulier. C'est un cas pour lequel la période d'excitation est suivie d'une période de ralentissement (Action inhibitrice de certains auteurs).
- b) Après vingt-sept minutes de survie en ++ on observe les mêmes phénomènes que dans les tracés VIII et X.



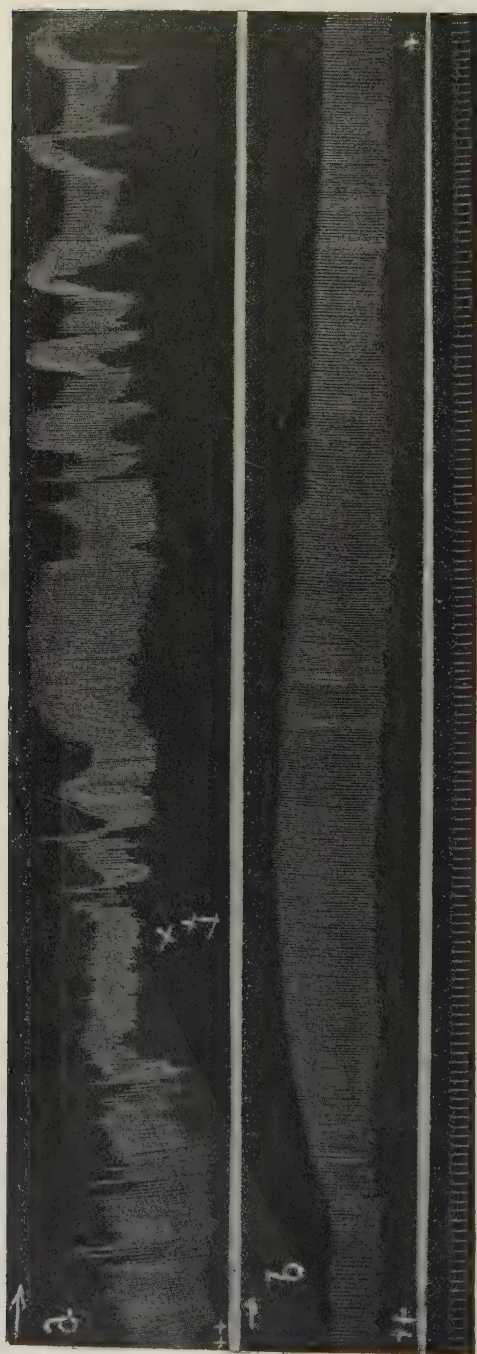
Je dois spécifier ici qu'il ne s'agit pas, dans la différence des niveaux sur lesquels se fait le tracé des contractions, d'une différence de pression dans le système coronaire. Si cela était, une ascension de la ligne de tracé coïnciderait, comme Herlitzka l'a démontré [7], avec une baisse de pression, peu compatible avec un état d'hypertonie de la fibre cardiaque. Une telle modification de pression *ne peut pas avoir lieu* quand on se sert de l'appareil de Pachon, dans lequel la pression se maintient constante, automatiquement;

4° Les troubles d'hyperactivité présentés par un cœur isolé sous l'influence d'un sérum hétérogène (sérum de cheval) sont liés à l'exci-



TRACÉ IX bis. — 6 avril 1911. Action du sérum de cheval.

+ Ringer-Locke pur... + Ringer-Locke additionné de 15 p. 100 de sérum de cheval. On observe la phase d'augmentation d'amplitude, phase courte. L'accélération du cœur continue à progresser, mais l'amplitude des systoles diminue. Il n'y a pas eu d'arrêt.



TALCÉ X. — 12 avril 1914. *Action du sérum de cheval.*

a) ++ le cœur est perfusé avec Ringer-Locke additionné de 5 p. 100 de sang total de cobaye. En +++ on passe en Ringer-Locke additionné de 15 p. 100 de sérum de cheval; hypertonicité.

b) On laisse le cœur en +++ : douze minutes après le début des accidents signalés en a le cœur qui est en Ringer-Locke est à nouveau perfusé avec ++++. Les accidents ci-dessus ne se renouvellent pas. (Accoutumance?)



tation continue déterminée par le sérum; ils cessent avec le passage de ce liquide. Ceci d'une façon générale. Exceptionnellement, quand le liquide sérique est resté pendant trop longtemps en circulation, le cœur reste intoxiqué, il s'affaiblit graduellement.

Je me suis préoccupé tout particulièrement de déterminer si la répétition de l'excitation cardiaque par le sérum de cheval était suivie de la répétition des phénomènes déterminés primitivement par ce sérum.

J'ai pu voir qu'il n'existait pas d'accoutumance du cœur pour le sérum dans les conditions spéciales qui sont fixées ici.

Presque toujours, quand, après avoir perfusé avec du liquide de Ringer-Locke un cœur isolé ayant subi déjà l'action du sérum de cheval, on repasse du sérum de cheval, les résultats observés dans ce second passage sont moins apparents que pour le premier, mais ils sont du même ordre. Il faut faire intervenir ici la fatigue du cœur pour expliquer cette différence de degré dans les résultats, bien plutôt qu'un phénomène d'accoutumance (1).

#### BIBLIOGRAPHIE

Je ne donne dans cet index que les noms des auteurs dont j'ai invoqué l'opinion ou cité les travaux au cours du présent mémoire. La bibliographie des travaux sur l'action des sérums sur le cœur isolé sera donnée dans une revue critique que je prépare spécialement sur ce sujet.

1. PACHON, *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, t. LXVIII, 27 nov. 1909, p. 599.

2. BATTELLI et MIONI, *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, t. LV, 1903, p. 1548.

3. KRONECKER et MAC GUIRE, *Arch. f. Physiol.*, 1878, p. 321.

4. LANGENDORFF, *Arch. f. die gesammte Physiol.*, vol. 93, 1903, p. 286.

5. BRANDENBURG, *Arch. f. die gesammte Physiol.*, vol. 95, 1903, p. 625.

## DE L'ANAPHYLAXIE ALIMENTAIRE (1)

### PAR LA CRÉPITINE

par CHARLES RICHET.

Les expériences faites jusqu'à ce jour sur l'anaphylaxie alimentaire, inaugurée par Rosenau et Anderson, n'ont donné que des résultats assez incertains. Même les faits signalés par Rosenau et Anderson n'entraînent pas la certitude, car les savants physiologistes américains n'ont pas pu déterminer la cause de tels écarts dans leurs résultats.

Avec la crépitine, j'ai pu obtenir des effets d'anaphylaxie alimentaire extrêmement nets, et je les exposerai ici brièvement.

### I

#### MÉTHODE ET PRÉPARATION.

En essayant de séparer la crépitine en crépitine jaune et crépitine noire, j'ai obtenu une assez grande quantité d'un produit intermédiaire, pour ainsi dire, qui, pendant longtemps, a été laissé au contact d'alcool à 65 p. 100. Le précipité a été recueilli, desséché, pulvérisé, formant une poudre jaunâtre qui se conserve très bien, et qui est soluble en toutes proportions dans l'eau. C'est ce produit, que j'appelle crépitine brute, qui a servi à mes expériences. J'en avais, en effet, une quantité notable, 135 grammes environ, de sorte que je pou-

(1) Nous appellerons *anaphylaxie alimentaire* l'anaphylaxie obtenue par l'ingestion de telle ou telle substance, quelle qu'elle soit, dans les voies digestives, et non, d'une manière restrictive, *l'anaphylaxie par les aliments*. Ainsi, en faisant ingérer à des chiens de la crépitine avec des aliments, encore que la crépitine ne soit nullement un aliment, nous réalisons une anaphylaxie alimentaire. L'anaphylaxie obtenue par l'ingestion d'aliments normaux n'a pas été prouvée encore; il est même douteux qu'elle existe, même dans le cas de surcharge digestive par des aliments ingérés en trop grande quantité.



vais en donner par dose alimentaire des quantités considérables.

Je rappellerai, pour mémoire, que la dose toxique de crépitine était de 0,001 par kilogramme dans mes expériences antérieures; que, pour la crépitine noire, elle était identique, et que, pour la crépitine rouge, soluble dans l'alcool à 50 p. 100, la dose toxique n'était plus que 0,020.

Pour la crépitine brute, employée dans les expériences d'anaphylaxie alimentaire que je vais décrire, la dose toxique a été voisine de 0,0015, comme l'indique le tableau suivant, pour des chiens ayant reçu la toxine en injection intraveineuse.

| NUMÉROS | NOMS DES CHIENS  | DOSE DE CRÉPITINE<br>brute<br>en milligr. par kilogr. | SURVIE<br>en jours. |
|---------|------------------|---|---------------------|
| —       | —                | —   | —                   |
| 187.    | <i>Esteban.</i>  | 3.8   | 14                  |
| 188.    | <i>Sonoro.</i>   | 2.6   | 8                   |
| 189.    | <i>Arenas.</i>   | 2.0   | 13                  |
| 190.    | <i>Castillo.</i> | 1.7   | Survie.             |
| 191.    | <i>Padillo.</i>  | 1.6   | 11                  |
| 192.    | <i>Barbosa.</i>  | 1.5   | Survie.             |
| 193.    | <i>Toucan.</i>   | 1.4   | Survie.             |

Je n'insiste pas sur les symptômes de cette injection intraveineuse de crépitine. Immédiats, aux doses indiquées ici, ils sont nuls. Après l'injection, l'animal est gai et bien portant, avec de l'appétit pendant les deux ou trois premiers jours. Puis surviennent l'inappétence, la faiblesse, l'amaigrissement, la diarrhée, et la mort dans un coma hypothermique.

Pour faire prendre par la voie alimentaire de la crépitine à un chien, rien n'est plus simple. Il suffit de peser la quantité voulue de crépitine et d'ajouter à cette masse une ou deux gouttes d'eau. Alors la poudre desséchée se gonfle en s'hydratant, et on a ainsi une masse gélatineuse, visqueuse, une sorte de bol pilulaire qu'on met dans un morceau de viande crue, et le chien l'avale avec avidité sans mâcher.

Cette ingestion de crépitine, même à très forte dose, ne provoque jamais aucun phénomène. *Montevideo*, après l'énorme dose de 9 grammes (capable de tuer en injection veineuse 600 chiens de 10 kilogrammes), n'a rien éprouvé, ni immédiatement, ni les jours suivants. De même pour *Silva*, *Normandie*,

et d'autres encore, ayant reçu une très forte dose. Le seul symptôme, peut-être, de cette ingestion alimentaire de crépitine, c'est, au bout de deux ou trois semaines, un certain degré de prurit. Encore ce prurit est-il déterminé plutôt par la gale (rouge) des chiens que par toute autre cause. (Il me paraît possible que l'ingestion de crépitine tende à faciliter l'invasion de la gale.)

Voici les chiens ayant reçu une dose de crépitine supérieure à 0 gr. 6 par kilogramme.

| NUMÉROS | NOMS<br>des chiens. | DOSE<br>en milligr. par kil. | REMARQUES                                      |
|---------|---------------------|------------------------------|--|
| 196.    | <i>Montevideo.</i>  | 2000                         | Très galeux. Sacrifié le 40 <sup>e</sup> jour. |
| 197.    | <i>Normandie.</i>   | 1700                         | Sacrifiée le 62 <sup>e</sup> jour.             |
| 198.    | <i>Silva.</i>       | 1400                         | Ingestion ultérieure de crépitine.             |
| 199.    | <i>Sierra.</i>      | 1000                         | Survit.  |
| 200.    | <i>Mississipi.</i>  | 600                          | Ingestion ultérieure de crépitine.             |
| 201.    | <i>Ariel.</i>       | 600                          | Survit.  |

## II

### CRÉPITINE EN INGESTION DÉCHAINANTE.

Donc les symptômes sont nuls si la crépitine est ingérée par un animal neuf. Mais il en est tout autrement si l'animal a antérieurement reçu une ingestion ou une injection de crépitine. Je vais en donner quelques exemples très nets.

I. — *Barbosa* (n° 192), qui a reçu une injection intraveineuse de 0,0015 de crépitine le 3 décembre, reçoit en ingestion avec de la viande, le 30 décembre, c'est-à-dire au 27<sup>e</sup> jour, 4 grammes de crépitine (chiffre absolu), soit 0,42 par kilogramme.

A 3 h. 15, vomissements répétés, intenses. L'animal vomit toute la viande qu'il avait prise. (Que lui reste-t-il dans l'estomac?)

A 3 h. 22, après une courte période de diarrhée, qui succède aux vomissements, il est pris d'un prurit tout à fait extraordinaire. Il se frotte le nez contre le paillason, se roule par terre avec frénésie, se gratte de tous côtés. Mais ce prurit extrême dure peu, et, à 3 h. 35, tout est fini.

Le lendemain et les jours suivants, santé intacte.

II. — *Toucan* (n° 193) a reçu, le 9 janvier, 0,0014 de crépitine brute en injection intraveineuse. Le 11 février, c'est-à-dire au 33<sup>e</sup> jour, il reçoit en ingestion 0,3 (par kilogramme) de crépitine, à 8 h. 50. A 9 heures, diarrhée, démangeaisons. A 9 h. 10, les démangeaisons deviennent intenses; il ne sait de quel côté se gratter. Il se secoue les oreilles énergiquement. A 9 h. 30 tout symptôme a disparu.



III. — *Castillo* (n° 190) a reçu, le 9 janvier, 0,0017 de crépitine brute en injection intraveineuse. Le 11 février, c'est-à-dire au 33<sup>e</sup> jour, il reçoit en ingestion 0,3 (par kilogramme) de crépitine à 8 h. 45. A 8 h. 50, diarrhée. A 8 h. 51, démangeaisons rectales; à 9 heures, il se gratte avec force, et les démangeaisons prennent une grande intensité pour s'atténuer bientôt et disparaître complètement à 10 h. 5.

IV. — *Ariel*, qui avait reçu en octobre une injection de sérum de cheval, reçoit, le 3 décembre, une injection de 0,002 de crépitine. Cette dose, qui est mortelle pour un animal neuf, n'a pas été mortelle pour lui, et, de plus, le 30 décembre, après ingestion de 0,6 de crépitine, il n'est nullement malade. Il n'a même pas de démangeaisons. Mais on ne peut, par suite de l'injection antérieure de sérum de cheval, le comparer à un animal intact.

Donc, de ces expériences (car l'expérience faite avec *Ariel* n'est pas négative), résulte ce fait évident que l'ingestion (alimentaire) de crépitine peut être déchainante à la suite d'une injection préparante.

On peut prouver aussi que l'ingestion est encore déchainante quand, au lieu d'une injection préparante, on a déterminé une ingestion préparante. Mais les effets sont beaucoup moins intenses, et je me contenterai de citer deux cas.

(202) *Miguel* ingère, le 16 janvier, la minime quantité de 0,034 (par kilogramme) de crépitine. Le 17 février, au 32<sup>e</sup> jour, on lui fait ingérer, à 9 h. 34, 0,3 (par kilogramme) de crépitine. A 9 h. 55, il vomit à diverses reprises, se secoue les oreilles, et vomit encore. A 10 h. 20, il a de la diarrhée, et *il y a du sang dans les liquides diarrhéiques*.

(203) *Chrysanthème* ingère, le 27 décembre, 0,36 (par kilogramme) de crépitine. Le 23 janvier, au 28<sup>e</sup> jour, elle ingère 0,14, à 2 h. 10. Nul phénomène jusqu'à 4 h. 2. Alors, vomissements. Elle vomit toute sa viande, puis, comme elle n'est pas malade, la reprend. A 3 h. 5, elle est prise d'un prurit très fort, extrêmement net, qui se prolonge assez longtemps et a cessé tout à fait à 5 h. 15.

En général, à l'ingestion déchainante, les chiens vomissent; même assez souvent ils ne peuvent se décider à prendre la viande qu'on leur donne, et c'est alors, dans toute sa netteté, que se manifeste le rôle protecteur du vomissement anaphylactique. Comme le vomissement est le premier symptôme de l'anaphylaxie, dès que s'institue, même très faiblement, l'état anaphylactique, aussitôt le vomissement survient, et l'animal n'a plus à craindre d'intoxication ultérieure.

Le tableau suivant indique nettement quelles sont les doses de l'ingestion déchainante capables de provoquer l'anaphylaxie. On verra que ces doses doivent être assez fortes. Au contraire, même dans le cas où l'ingestion préparante a été à faible dose,

l'anaphylaxie est nette, comme dans le cas de *Chicago*, si l'ingestion déchainante est suffisante comme quantité.

Afin de faciliter la lecture de ce tableau, nous indiquerons par des chiffres, assez arbitraires, mais suffisants pour donner une idée nette des différences, ces divers degrés de l'anaphylaxie : 5 sera l'anaphylaxie foudroyante, avec mort rapide, très rare chez le chien, paralysie immédiate et totale de la sensibilité et de la motilité ; 4, anaphylaxie très forte, avec perte de la conscience, coma, hémorragies rectales, vomissements, mais, au bout d'une heure ou de trois quarts d'heure, retour à la conscience et à la mobilité volontaire ; 3, anaphylaxie forte, diarrhée, vomissements plus ou moins sanguinolents, état demi-comateux, respirations difficiles, presque asphyxiques ; 2, anaphylaxie moyenne, caractérisée par un prurit très fort, de l'abattement, des vomissements, retour rapide à l'état normal ; 1, anaphylaxie faible (nette cependant) caractérisée par des vomissements, du prurit plus ou moins marqué et un certain état de lassitude vite réparé.

| DATE<br>par kil.<br>en grammes<br>de l'ingestion<br>antérieure<br>préparante. | NUMÉROS ET NOMS<br>des chiens. | DOSE<br>par kil.<br>en grammes<br>de<br>l'ingestion<br>déchainante. | DURÉE<br>de la<br>période intermédiaire.<br>(en jours)<br>entre<br>l'ingestion préparante<br>et l'ingestion<br>déchainante. | DEGRÉ<br>de<br>l'anaphylaxie. |
|---|--------------------------------|---|---|-------------------------------|
| 0.1   | 214. <i>Algérie.</i>           | 0.45  | 22  | 1                             |
| 0.034   | 202. <i>Miguel.</i>            | 0.3   | 32  | 3                             |
| 0.3   | 203. <i>Macbeth.</i>           | 0.3   | 39  | ?                             |
| 0.014   | 204. <i>Chicago.</i>           | 0.3   | 23  | 2                             |
| 0.37  | 205. <i>Caliban.</i>           | 0.17  | 33  | 0                             |
| 0.36  | 206. <i>Chrysanthème.</i>      | 0.14  | 28  | 3                             |
| 0.31  | 207. <i>Christophe.</i>        | 0.1   | 28  | ?                             |
| 1.70  | 197. <i>Normandie.</i>         | 0.1   | 35  | 2                             |
| 0.01  | 208. <i>Missouri.</i>          | 0.1   | 55  | 0                             |
| 0.49  | 209. <i>Macduff.</i>           | 0.09  | 34  | ?                             |
| 0.01  | 210. <i>Talou.</i>             | 0.05  | 28  | 0                             |
| 0.25  | 211. <i>OËlet.</i>             | 0.04  | 28  | 0                             |
| 1.00  | 199. <i>Sierra.</i>            | 0.03  | 53  | 0                             |
| 0.02  | 212. <i>Illinois.</i>          | 0.025   | 28  | 0                             |
| 0.60  | 200. <i>Mississipi.</i>        | 0.02  | 28  | 0                             |
| 0.30  | 213. <i>Nevada.</i>            | 0.01  | 14  | 1                             |



Nous avons alors, pour l'anaphylaxie consécutive à l'ingestion déchainante, le tableau qui précède, dans lequel les chiens sont sériés d'après la dose de l'ingestion déchainante.

Ces faits prouvent qu'à des doses inférieures à 0,1, il n'y a pas d'anaphylaxie par ingestion déchainante, *quelle qu'ait été la dose de l'ingestion préparante*, tandis qu'à des doses supérieures à 0,1, il y a presque toujours anaphylaxie, *quelle qu'ait été la dose de l'ingestion préparante*.

(Bien entendu, les doses préparantes doivent être supérieures à 0,015) (1).

### III

#### CRÉPITINE EN INGESTION PRÉPARANTE.

La crépitine en ingestion préparante est extrêmement efficace pour anaphylactiser, beaucoup plus qu'on ne pourrait le supposer, en prenant seulement les cas dans lesquels il y a ingestion préparante et ingestion déchainante. En effet, l'ingestion d'une forte dose de crépitine met l'animal dans un état comparable à celui des animaux le plus fortement anaphylactisés.

Je présenterai plus loin le tableau d'ensemble de nos expériences sur ce point. Mais, pour indiquer à quel degré intense se manifeste l'anaphylaxie (par ingestion préparante et injection déchainante), je rapporterai l'expérience d'*Alonzo*.

*Alonzo* (7 kil. 100) reçoit, le 26 novembre, 5 grammes de crépitine, soit 0,7 par kilogramme. Il n'est malade ni le premier jour, ni les jours suivants. Le 26 décembre (Poids = 6,500), à 2 h. 27, je lui fais une injection intraveineuse d'une solution de crépitine à 2 p. 1.000 à la dose de 9 centimètres cubes, soit 0,0026 par kilogramme; immédiatement, pendant l'injection même, il vomit. Les vomissements sont intenses, douloureux, convulsifs. A 2 h. 35, état de stupeur intense. Cataplexie musculaire. A 2 h. 37, les phénomènes s'aggravent. Il tombe. Les pattes antérieures ne peuvent plus le soutenir. Il n'y a pas de cécité psychique absolue, mais l'insensibilité est complète. Respiration angoissée, difficile. A 2 h. 50, il réagit à peine; sur le flanc, ne pouvant se tenir debout. A 3 h. 20, il se relève. Il meurt dans la nuit.

(1) Le cas de *Nevada* est un peu exceptionnel. Il est à remarquer que l'épreuve a été tentée seulement au 14<sup>e</sup> jour après l'injection. Est-ce à cela que nous devons une anaphylaxie très nette après une ingestion déchainante de 0,01?

Pour comparer les effets de l'injection déchainante et de l'ingestion déchainante, l'expérience sur le chien *Caliban* est très instructive.

*Caliban* avait ingéré 0,39 (par kilogramme) de crépitine le 30 décembre. Le 1<sup>er</sup> février, au 33<sup>e</sup> jour, on lui fit ingérer 0,175 (par kilogramme) de crépitine sans déterminer aucun phénomène. Alors, deux heures après, je lui injecte dans la veine 0,0017 (par kilogramme) de crépitine, et on observe alors des accidents anaphylactiques modérés, mais extrêmement nets. La respiration est difficile, anxieuse. Il est pris d'une lassitude extrême et a grande peine à se relever.

Par conséquent, l'injection a été efficace pour déchaîner l'anaphylaxie, alors que l'ingestion avait été sans effet.

Voici le tableau résumant ces effets de l'injection déchainante après ingestion préparante :

| DOSE<br>de crépitine<br>en gr. par kil.<br>en ingestion<br>préparante. | NUMÉROS ET NOMS<br>des chiens. | DOSE<br>de crépitine<br>en gr. par kil.<br>en injection<br>déchainante. | PÉRIODE<br>d'intervalle<br>(en jours). | SORT<br>de<br>l'animal. | DÉGHÉ<br>de<br>l'anaphylaxie. |
|--|--------------------------------|---|--|-------------------------|-------------------------------|
| 1.7  | 197. <i>Normandie.</i>         | 0.003   | 61                                     | Mort.                   | 2                             |
| 0.3  | 204. <i>Chicago.</i>           | 0.004   | 38                                     | Survie.                 | 2                             |
| 0.3  | 202. <i>Miguel.</i>            | 0.004   | 38                                     | Survie.                 | 3                             |
| 0.3  | 213. <i>Nevada.</i>            | 0.004   | 31                                     | Mort.                   | 5                             |
| 0.29   | 215. <i>Falkland.</i>          | 0.0039  | 31                                     | Survie.                 | 0                             |
| 0.49   | 209. <i>Macduff.</i>           | 0.0034  | 47                                     | Survie.                 | 3                             |
| 0.7  | 216. <i>Alonzo.</i>            | 0.0026  | 29                                     | Mort.                   | 4                             |
| 0.16   | 217. <i>Aragon.</i>            | 0.0018  | 29                                     | Mort.                   | 4                             |
| 0.06   | 218. <i>Petruccio.</i>         | 0.0017  | 29                                     | Survie.                 | 1                             |
| 0.37   | 205. <i>Caliban.</i>           | 0.0017  | 33                                     | Survie.                 | 1                             |
| 0.09   | 219. <i>Rosario.</i>           | 0.0013  | 15                                     | Mort.                   | 1                             |
| 0.25   | 220. <i>Œillet.</i>            | 0.00125   | 34                                     | Survie.                 | 1                             |
| 0.44   | 221. <i>Barthélemy.</i>        | 0.0012  | 31                                     | Survie.                 | 3                             |
| 0.125  | 222. <i>Dahlia.</i>            | 0.0011  | 24                                     | Survie.                 | 4                             |
| 1.4  | 198. <i>Silva.</i>             | 0.0011  | 37                                     | Mort.                   | 4                             |
| 0.22   | 223. <i>Aubépin.</i>           | 0.0010  | 47                                     | Survie.                 | 2                             |

Il ressort de ce tableau ce fait que, dans une très large mesure, l'anaphylaxie est indépendante de la dose de l'injection déchainante. *Silva* (198) a eu une anaphylaxie extrêmement forte avec 0,004. D'autre part, la dose de l'ingestion préparante n'a pas, non plus, grande importance, puisque *Dahlia* a eu une très forte anaphylaxie après ingestion de 0,125.



Ce qui ressort aussi de ce tableau, c'est que l'injection est bien plus efficace pour déchaîner l'anaphylaxie que l'ingestion. Presque tous les chiens ayant reçu une injection déchaînante ont été très malades. Or les choses sont tout autres, quand il s'agit d'une ingestion déchaînante.

Aussi bien, si l'on voulait, pour une expérience de cours, démontrer le fait de l'anaphylaxie alimentaire, faudrait-il procéder de la manière suivante : donner à un chien de 10 kilogrammes 5 grammes de crépitine le 1<sup>er</sup> mai, par exemple, et un mois après, le 1<sup>er</sup> juin, lui injecter 0 gr. 01 (soit 0,001 par kilogramme). Cette dose, qui est absolument inoffensive pour un chien normal, déterminera alors certainement une très forte anaphylaxie, et la réalité de l'anaphylaxie alimentaire sera démontrée d'une manière éclatante.

#### IV

##### ANTIANAPHYLAXIE PAR INGESTION ALIMENTAIRE.

Le fait que l'ingestion de crépitine détermine de l'anaphylaxie implique nécessairement ceci, comme l'avait d'ailleurs indiqué Besredka, qu'une certaine quantité de crépitine passe dans la circulation, et alors, tout naturellement, il s'ensuit qu'on pourra anaphylactiser par cette voie.

C'est ce que j'ai pu obtenir dans l'expérience suivante que j'ai résumée dans les comptes rendus de la Société de Biologie (janvier 1911) et que je donne ici *in extenso* :

*Christophe* prend, le 30 décembre, en ingestion, 0,31 de crépitine, et *Barthélemy* prend le même jour 0,44. Alors, le 27 janvier, on fait ingérer à *Christophe* 0,4 (par kilogramme) de crépitine, ce qui détermine un très léger état anaphylactique, douteux même.

Le 31 janvier, on lui injecte, par la veine, 0,0045 (par kilogramme) de crépitine ; il ne paraît nullement malade ; mais il a de la défécation avec un ténésme rectal assez marqué. Au bout d'une dizaine de minutes, tout symptôme a disparu. On peut en conclure qu'il avait été anaphylactisé par l'ingestion alimentaire du 27 janvier.

Au contraire, *Barthélemy*, après injection, à 3 h. 40, de 0,0012 de crépitine, présente, à 3 h. 45, une anaphylaxie extrêmement nette. Il ne peut plus se tenir debout, titube, ne réagit pas au pincement des pattes. Il n'a pas cependant encore de cécité psychique, mais un état d'inertie, cataleptoïde, qui

devient de plus en plus grave. A 3 h. 47, il peut encore se tenir debout, mais les pupilles sont dilatées et l'hébétude est complète. Le contraste est saisissant entre lui et *Christophe*, qui paraît indemne. A 3 h. 50, il se remet un peu. A 3 h. 55, même état, qui s'améliore. A 4 heures, la respiration est un peu difficile, mais l'état général est meilleur. A 4 h. 30, il paraît complètement remis.

Il résulte de cette expérience que l'antianaphylaxie, suivant la méthode de Besredka, peut être obtenue par l'ingestion alimentaire.

## V

### IMMUNITÉ PAR INGESTION ALIMENTAIRE.

De même que l'antianaphylaxie, l'immunité par ingestion alimentaire est la conséquence nécessaire de la pénétration des toxines dans le sang, après ingestion. Pour établir le fait de cette immunisation par voie alimentaire, je citerai les expériences suivantes, décisives.

[Rappelons que la dose toxique de crépitine en injection intraveineuse est voisine de 0,0015.]

*Asturie, Chicago, Miguel, Nevada* reçoivent, le même jour chacun, en injection intraveineuse, 0,004 par kilogramme (le 27 mars) (crépitine à 2 p. 1.000).

*Nevada* avait ingéré, le 10 février, 0,3, et le 24 février, 0,01.

*Miguel* avait ingéré, le 17 janvier, 0,03, et le 17 février, 0,3.

*Chicago* avait ingéré, le 25 janvier, 0,2, et le 17 février, 0,3.

*Asturie* avait reçu, le 15 février, une injection de 0,001, et le 10 mars avait ingéré 0,02.

Tout de suite après l'injection, l'anaphylaxie se déchaîne avec une intensité extrême chez ces quatre chiens, et, au début, les symptômes sont à peu près identiques (vomissements, titubation, hébétude, défécation, diarrhée sanglante). Mais deux heures après l'injection, on peut prévoir à peu près le résultat.

*Nevada* est très malade, inerte, incapable à peine de se relever. Température, 34°3. Elle meurt dans la nuit.

*Asturie* a une diarrhée intense, mais ne paraît pas très malade. Température, 34°5.

*Miguel* paraît assez malade, avec diarrhée intense, hémorragique. Température, 40°8.

*Chicago* ne semble pas bien malade. Il est même assez vigoureux encore pour avoir quelques démangeaisons. Température, 39°8.



La température permettait déjà d'établir un pronostic, et, de fait, ce pronostic se justifie, car *Nevada* et *Asturie* meurent dans la nuit, tandis que *Chicago* et *Miguel* survivent.

Cette différence entre quatre chiens à peu près identiquement traités ne doit pas surprendre. Tous les physiologistes qui ont essayé des immunisations savent qu'ils ne sont jamais assurés, quand ils l'éprouvent avec de fortes doses, qu'il n'y aura pas mort de l'animal.

A ces deux chiens *Chicago* et *Miguel*, ayant résisté à la dose (fatale pour un chien neuf) de 0.004, il faut ajouter encore *Falkland*, qui, après avoir ingéré 0.29 le 27 janvier, reçoit le 28 janvier 0.0038 en injection et survit; *Macduff*, qui, après avoir ingéré 0.49 le 27 décembre, et 0.07 le 31 janvier, reçoit le 14 février une injection de 0.0034 et survit.

Voici donc quatre chiens, *Chicago*, *Miguel*, *Falkland* et *Macduff*, qui par l'ingestion alimentaire ont été non seulement anaphylactisés, mais immunisés.

Il est inutile d'insister sur l'importance de ce fait, qui introduira peut-être de nouvelles méthodes d'immunisation, encore qu'il soit nécessaire de se mettre en garde contre toute généralisation prématurée, car ce qui est vrai de la crépitine peut très bien ne pas s'appliquer aux autres toxines albuminoïdes bactériennes ou animales.

## VI

### LEUCOCYTOSE ET ANAPHYLAXIE ALIMENTAIRE.

Il ne s'agira ici que de la leucocytose déterminée par l'ingestion alimentaire de la crépitine. Nous n'étudierons pas les effets des injections intraveineuses, réservant cette étude pour un autre travail.

Nous rappellerons 1° que chez le chien normal le nombre moyen des leucocytes est de 10.000 par millimètre cube; 2° qu'après une injection très forte de toxine il y a leucocytose; 3° qu'après une injection très faible de toxine chez un animal anaphylactisé il y a encore leucocytose.

Il fallait donc s'attendre à trouver, après ingestion, les mêmes résultats qu'après l'injection, et il ne pouvait guère en être autrement; mais, dans ce cas, la question intéressante, et

même la seule question intéressante, c'était de savoir quelles doses de crépitine en ingestion, soit sur l'animal normal, soit sur l'anaphylactisé, sont capables de provoquer la leucocytose.

La numération était faite de 4 à 6 heures après l'ingestion (ou l'injection), par la méthode de Hayem.

1<sup>o</sup> Ingestion préparante. — (Première ingestion.)

| NOMS<br>des chiens. | DOSE<br>de crépitine<br>par kilogr.<br>(en grammes). | NOMBRE ABSOLU<br>de leucocytes<br>par<br>millimètre cube<br>(en<br>centaines). | NOMBRE RELATIF<br>de leucocytes,<br>le chiffre antérieur<br>sur le<br>même animal<br>étant 100. | MOYENNE |
|---------------------|--|--|---|---------|
| —                   | —  | —  | —   | —       |
| <i>Sierra.</i>      | 1.00   | 178  | 164   | 171     |
| <i>Mississippi.</i> | 0.60   | 124  | 116   | 120     |
| <i>Nevada.</i>      | 0.30   | 155  | 126   | 140     |
| <i>Algérie.</i>     | 0.10   | 62   | 120   | 91      |
| <i>Villedo.</i>     | 0.02   | 131  | 174   | 152     |
| <i>Illinois.</i>    | 0.02   | 178  | 210   | 194     |
| <i>Tatou.</i>       | 0.01   | 77   | ?   | 77      |
| <i>Missouri.</i>    | 0.01   | 108  | 172   | 140     |

2<sup>o</sup> Ingestion déchainante. — (Seconde ingestion.)

|                      |       |     |     |     |
|----------------------|-------|-----|-----|-----|
| <i>Castillo.</i>     | 0.30  | 200 | 138 | 170 |
| <i>Toucan.</i>       | 0.30  | 193 | 193 | 193 |
| <i>Chicago.</i>      | 0.30  | 130 | 120 | 135 |
| <i>Miguel.</i>       | 0.30  | 217 | 190 | 203 |
| <i>Macbeth.</i>      | 0.30  | 185 | 114 | 150 |
| <i>Missouri.</i>     | 0.10  | 124 | 134 | 128 |
| <i>Tatou.</i>        | 0.035 | 70  | 220 | 145 |
| <i>Sierra.</i>       | 0.030 | 232 | 186 | 209 |
| <i>Castillo.</i>     | 0.025 | 139 | 360 | 250 |
| <i>Illinois.</i>     | 0.025 | 121 | 96  | 109 |
| <i>Chrysanthème.</i> | 0.020 | 108 | 126 | 117 |
| <i>Christophe.</i>   | 0.020 | 170 | 144 | 157 |
| <i>Barbosa.</i>      | 0.020 | 108 | 140 | 124 |
| <i>Asturie.</i>      | 0.020 | 93  | 85  | 89  |
| <i>Mississippi.</i>  | 0.020 | 217 | 250 | 233 |
| <i>Sombrero.</i>     | 0.020 | 218 | 140 | 179 |
| <i>Chicago.</i>      | 0.016 | 148 | 140 | 144 |
| <i>Dahlia.</i>       | 0.01  | 124 | 124 | 124 |
| <i>Petruccio.</i>    | 0.01  | 155 | 166 | 160 |
| <i>Nevada.</i>       | 0.01  | 100 | 130 | 115 |
| <i>Falkland.</i>     | 0.01  | 209 | 250 | 230 |
| <i>Ariel.</i>        | 0.01  | 116 | 130 | 123 |

Si nous faisons la moyenne générale, nous voyons qu'après une première ingestion, par conséquent lorsqu'il s'agit de

chiens normaux, pour des doses égales ou inférieures à 0,3 par kilogramme, le chiffre leucocytaire moyen est de 132.

Pour les chiens anaphylactisés, le chiffre leucocytaire moyen est de 158 ; autrement dit dans les deux cas il y a leucocytose, mais elle est beaucoup plus intense chez les anaphylactisés.

Même lorsque les symptômes de l'anaphylaxie font complètement défaut, on peut encore constater une intense leucocytose. Ainsi, dans l'expérience du 29 avril, trois chiens anaphylactisés prennent de la crépitine en ingestion : *Tatou*, 0,035 ; *Castillo*, 0,025 ; *Chicago*, 0,016. On ne peut alors constater aucun effet anaphylactique extérieur ; mais cependant la leucocytose à la cinquième heure est très intense, car on leur trouve respectivement 145 ; 250 ; 144. Un autre exemple plus net encore est celui de *Falkland*, qui, après ingestion de 0,011 (p. k.), a le chiffre énorme de 230, sans avoir eu le plus faible phénomène anaphylactique, ce qui d'ailleurs s'explique, car il avait été immunisé et avait résisté à la dose de 0,0038 en injection veineuse.

On remarquera la faiblesse de la dose nécessaire pour provoquer la réaction leucocytaire lors de l'ingestion déchainante.

En prenant les chiens ayant reçu une ingestion déchainante égale ou inférieure à 0 gr. 02 (par kil.), ce qui est fort peu puisqu'un chien ne meurt pas, même après ingestion de 2 grammes, on a un chiffre moyen de 149, c'est-à-dire, en somme, assez voisin du chiffre obtenu chez les chiens ayant reçu une dose supérieure à 0,02, chiffre qui est de 168.

Par conséquent la leucocytose nous apparaît comme un phénomène réactionnel extrêmement délicat, susceptible de manifester l'anaphylaxie alors que les autres réactions font défaut. (1)

Il faut évidemment rapprocher la leucocytose après injection de toxines, et la leucocytose après ingestion d'albumines solubles. J'ai démontré récemment avec P. Lassablière (2) que

(1) Il faut, bien entendu, attendre quelque temps avant de faire la numération. *Algérie*, chienne anaphylactisée, prend en ingestion 0,45, c'est-à-dire une dose très forte. Deux heures et demie après on numère ses leucocytes ; elle a le chiffre très faible de 93. Il faut donc au moins trois heures pour que la réaction s'établisse.

(2) *Leucocytose digestive après ingestion de viande*. *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 1911, p. 637. Toutes les numérations de leucocytes que je donne ici ont été faites par P. Lassablière.



la digestion des albumines solubles entraînait la leucocytose, tandis que celle des albumines insolubles ne changeait presque pas la proportion des globules blancs. On sait d'autre part que l'introduction dans la circulation d'albumines hétérogènes entraîne la leucocytose (Hamburger et Preussen). Par conséquent la leucocytose digestive est l'indice que des albumines solubles, non transformées par les sucs digestifs, ont passé dans la circulation (sans qu'on puisse cependant refuser toute stimulation leucocytaire à un travail digestif intense).

#### CONCLUSIONS.

1° Il y a une anaphylaxie alimentaire due à la pénétration d'une petite quantité d'antigènes qui ont échappé à l'action des sucs digestifs;

2° Cette pénétration d'antigènes équivaut à une injection intraveineuse. On peut donc par l'absorption digestive arriver aux mêmes résultats que par l'injection veineuse, c'est-à-dire à l'anaphylaxie, l'antianaphylaxie et l'immunité;

3° Il est probable que ces phénomènes s'appliqueront aux diverses toxines, encore qu'ils n'aient été prouvés que pour la crépitine. Les différences entre les toxines dépendront d'une part de la facilité d'absorption du poison par la muqueuse gastro-intestinale, d'autre part de sa résistance à l'action protéolytique des ferments digestifs;

4° La leucocytose décèle la pénétration des toxines soit lors de l'ingestion préparante, soit surtout lors de l'ingestion déchainante. C'est un phénomène réactionnel extrêmement délicat qui indique l'anaphylaxie, alors même que les autres symptômes anaphylactiques font défaut.







## PLASMODIUM DES MACAQUES DU TONKIN

par C. MATHIS et M. LEGER

(Avec la Pl. I.)

(Travail des laboratoires d'Hanoï, Tonkin).

Les singes macaques (*Macacus rhesus*, *Macacus lasiotis tche-liensis*) du Tonkin sont assez fréquemment parasités par un hématozoaire du genre *Plasmodium*, voisin de l'hématozoaire du paludisme.

Sur quarante animaux examinés, nous en avons trouvé cinq infectés. Cliniquement, l'infection naturelle ne se traduit par aucun symptôme, et seul l'examen du sang permet de reconnaître les singes porteurs d'hématozoaires.

Les parasites, dont le nombre varie d'un jour à l'autre, peuvent persister très longtemps. Il convient cependant de remarquer que l'infection s'atténue progressivement, pour disparaître à la longue. Des singes parasités ont été suivis pendant deux ans; au bout de ce temps, certains présentaient encore des hématozoaires; chez d'autres, ceux-ci avaient disparu définitivement.

### ÉTUDE MORPHOLOGIQUE.

Nous avons étudié le parasite à l'état frais et sur préparations colorées, soit par le Giemsa, soit par le Leishman.

EXAMEN A L'ÉTAT FRAIS. — A l'état frais, les hématozoaires apparaissent dans les globules rouges comme de petits corps sphériques, ovoïdes ou amiboïdes.

Les formes les plus jeunes n'ont pas de pigment. Dans les formes plus développées, le pigment est à grains assez gros très mobiles.

Aux stades les plus avancés, les grains de pigment n'ont plus qu'une faible mobilité.

La formation des microgamètes a lieu une dizaine de minutes après la sortie du sang des vaisseaux. Les flagelles, extrêmement mobiles, qui bousculent les globules rouges, atteignent

en longueur environ  $21\ \mu$  (c'est-à-dire trois fois le diamètre d'une hématie du singe).

EXAMEN SUR PRÉPARATIONS COLOREES. — L'aspect des parasites est un peu différent, suivant que l'on colore par le Giemsa ou par le Leishman, et il est bon de pratiquer les deux colorations.

Nous décrirons successivement l'état du globule rouge parasité, les formes asexuées et les formes sexuées.

*Globule rouge parasité.* — Les globules rouges envahis par les parasites ne subissent aucun changement de volume, mais ils présentent des granulations du type Schüffner (fig. 23, 25, 27, Pl. I).

Ces granulations ne sont pas toujours décelées. Le nombre considérable de frottis que nous avons colorés nous permet d'affirmer que la mise en évidence de cette altération du globule rouge tient surtout au colorant employé. Avec le Leishman, nous avons souvent obtenu le pointillé, d'autres fois nous avons échoué à le rendre manifeste, sans que nous puissions préciser la cause de ces succès. Avec nos échantillons de Giemsa additionnés ou non de solution de carbonate de potasse ou de bleu azur, nous n'avons jamais coloré les grains de Schüffner.

*Formes asexuées.* — Au stade le plus jeune (fig. 2, Pl. I), le schizonte, annulaire ou ovoïde, de  $3\ \mu$  de diamètre, est constitué par un liséré de protoplasma bleu clair non pigmenté, circonscrivant le noyau vésiculeux, lequel comprend une vacuole volumineuse, à travers laquelle apparaît souvent l'hématie et un karyosome. Celui-ci, toujours excentrique, situé à un des pôles, apparaît comme un gros grain, de couleur rouge rubis, pouvant mesurer plus de  $1\ \mu$  de diamètre.

On observe parfois deux karyosomes (fig. 3), de grosseurs égales ou inégales; ils sont situés à un même pôle du parasite, ou au contraire aux extrémités d'un même diamètre transversal.

A ce stade, l'hématozoaire du singe offre la plus grande ressemblance avec les jeunes formes de *Plasmodium præcox*.

Nous avons assez rarement rencontré deux schizontes parasitant le même globule.

A un état de développement plus avancé, le schizonte devient piriforme, triangulaire, ovalaire ou demi-sphérique (fig. 4, 5, 6); d'autres fois, il a l'aspect nettement amiboïde (fig. 25, 26, 30); exceptionnellement, il rappelle la forme en bandeau de *Plas-*

*modium malarix* (fig. 24). Le protoplasma bleu clair se charge de pigment verdâtre, dont les grains en fine poussière donnent au parasite une teinte tirant sur le vert. Le karyosome apparaît comme un anneau allongé (fig. 22), formé de petits grains chromatiques; le bord externe s'épaissit, tandis que l'interne s'amincit et finit par se rompre (fig. 23); le karyosome est alors en arc de cercle, et la chromatine est séparée du protoplasma par un espace clair de dimension très variable.

La segmentation du schizonte commence bien avant qu'il n'ait envahi entièrement l'hématie (fig. 8). Dans des formes ne mesurant pas plus de 3  $\mu$ , on note déjà deux ou plusieurs masses chromatiques. La fragmentation se fait par division mitotique successive et non par division simultanée du noyau : on rencontre ainsi des schizontes ayant 2, 4, et jusqu'à 16 noyaux.

Dans le parasite en segmentation, le protoplasma ne se colore plus uniformément; il existe des aires claires plus ou moins étendues (fig. 9, 31, 32). Le pigment à grains fins et jaune verdâtre, d'abord assez également réparti, tend de plus en plus à se réunir en amas (fig. 14, 34). Chaque noyau consiste en un groupement de filaments chromatiques tassés les uns contre les autres, revêtant un aspect étoilé irrégulier. Ces masses chromatiques sont entourées d'une aréole claire. Elles sont distribuées sans ordre dans le parasite.

Lorsque les noyaux sont au nombre de seize (fig. 15), ils perdent leurs prolongements, deviennent sphériques et compacts. Ils se disposent de façon assez régulière à la périphérie. Le protoplasma se condense alors autour de chacun d'eux. Le pigment se rassemble au centre en un amas serré. Dans l'ensemble, le parasite a le plus souvent l'aspect d'une marguerite, comme chez *Plasmodium malarix*.

La segmentation est alors complète. Seize mérozoïtes sont mis en liberté, constitués chacun par un gros noyau rouge lilas qu'entoure un mince liséré de protoplasma bleu clair.

*Formes sexuées.* — Les *macrogamètes* adultes sont libres. Dans leur forme typique (fig. 19, 37), ils sont sphériques ou légèrement ovoïdes; plus volumineux que les schizontes adultes, ils mesurent de 7 à 8  $\mu$ , dépassant donc très légèrement le volume moyen des hématies du singe.



Le protoplasma, homogène et dense, constitue la plus grande partie du parasite. Il prend une coloration bleue, plus foncée que celle des schizontes. Dans certaines formes, on distingue au centre une vacuole incolore.

Le pigment a une teinte brun verdâtre. Les grains, irréguliers, sont plus foncés et un peu plus gros que ceux des schizontes. Ces grains sont assez uniformément répartis; néanmoins, ils sont un peu plus abondants à la périphérie du parasite.

Le noyau, généralement excentrique, peu volumineux, a un karyosome irrégulier, formé de grains chromatiques en amas compact, et, le plus souvent, séparé du protoplasma par un espace incolore ou faiblement teinté en rose. Il n'y a pas de membrane nucléaire.

Les macrogamètes jeunes (fig. 46, 47), encore inclus dans les hématies, présentent les mêmes caractères que les formes adultes, mais le karyosome assez lâche est toujours excentrique et arrondi. Une vacuole, incolore et de grande dimension, lui est accolée. Le protoplasma, en demi-lune autour de la vacuole, se rejoint par ses deux branches au niveau du karyosome. La vacuole diminue au fur et à mesure que le parasite grossit.

Dans les tout premiers stades de développement, la distinction entre les gamétocytes et les schizontes est impossible.

Les *microgamétocytes* extraglobulaires (fig. 20, 40) sont irrégulièrement sphériques; ils sont plus déformables que les macrogamètes et d'une taille un peu moindre, 6  $\mu$  environ.

Le protoplasma est coloré en bleu cendré. Il est parsemé de grains de pigment jaunâtre, moins foncés, moins abondants et plus gros que ceux du macrogamète. Ces grains, de grosseurs différentes, ont tendance à se grouper en trainées ou en amas.

Le noyau, volumineux, moins dense que chez la ♀, peut occuper le tiers du parasite. Il forme une masse arrondie, rose, sur laquelle se distinguent des grains plus foncés.

#### INFECTION EXPÉRIMENTALE.

L'infection expérimentale est réalisée sans la moindre difficulté. Nous avons inoculé avec succès six macaques : deux par la voie péritonéale, quatre autres par la voie sous-cutanée, avec du sang de singe infecté.



Les parasites, rares les quatre premiers jours, sont devenus ensuite non rares, puis nombreux et très nombreux.

Le 13 octobre 1910, l'examen fut encore positif. Il en fut de même le 4 novembre 1910 et le 18 février 1911.

*Singe 27.* — Du poids de 2 kil. 870. Inoculé une première fois le 3 novembre 1910, sous la peau, avec du sang du singe 25, une deuxième fois le 24 novembre 1910, avec le sang du singe 29. Les parasites ont apparu le 30 novembre.

La température prise matin et soir pendant deux mois n'a pas montré d'élévation thermique marquée.

*Singe 28.* — Du poids de 1 kil. 800. Inoculé le 3 novembre 1910, sous la peau, avec le sang du singe 29, montra des hématozoaires le 20 novembre.

Chez cet animal, la température s'éleva à plusieurs reprises à plus de 40 degrés.

*Singe 29.* — Du poids de 2 kil. 200. Inoculé le 3 novembre 1910, dans les mêmes conditions que le précédent. Infecté le 15 novembre.

Les parasites, d'abord extrêmement rares, puis rares, deviennent assez nombreux et très nombreux.

Notons que, chez cet animal, le nombre des hématozoaires fut relativement beaucoup plus élevé que chez les deux autres singes. La température cependant ne dépassa que rarement 40 degrés.

Chez les deux premiers singes, inoculés dans le péritoine, la période d'incubation a été de onze jours. L'apparition des parasites chez les quatre singes injectés sous la peau eut lieu le douzième jour dans deux cas, le dix-septième jour dans un troisième cas. Quant au quatrième cas, l'examen du sang pratiqué quotidiennement ayant été négatif pendant vingt et un jours, il fut réinoculé, et les hématozoaires apparurent six jours après cette deuxième injection : il est difficile de dire, dans ce cas particulier, si la période d'incubation a été de vingt-sept jours ou seulement de six jours.

La voie péritonéale peut être considérée comme la plus sûre et la plus rapide. La voie sous-cutanée, toutefois, se montre à peu près aussi efficace.

L'apparition des hématozoaires dans la circulation périphérique ne se révèle par aucun trouble apparent. La vivacité de l'animal n'est pas affaiblie, et on n'observe pas de modification dans ses allures. Cependant on peut noter une élévation de température qui dépasse 40 degrés. Ces phénomènes d'hyperthermie n'ont aucune périodicité et ne se produisent que dans les premières semaines de l'infection.

Il n'y a aucune corrélation entre le degré thermométrique et le nombre des parasites dans le sang périphérique. Ceux-ci,



du reste, varient de nombre d'un jour à l'autre. Cependant, d'une façon générale, on constate que, très rares au début, ils augmentent notablement pour atteindre un maximum. Ils diminuent ensuite progressivement, mais très lentement. L'infection expérimentale, comme l'infection naturelle, est de très longue durée et dépasse un an.

L'absence de périodicité dans les phénomènes fébriles ne permet pas de préciser la durée de la phase asexuée de l'hématozoaire. L'examen quotidien du sang ne renseigne pas davantage sur le temps exact que la schizogonie met à se produire.

En effet, dans un même frottis de sang, on constate des parasites à tous les stades de développement, depuis les formes jeunes intraglobulaires jusqu'aux schizontes en segmentation.

En raison de la présence dans le sang de plusieurs générations de parasites, il est difficile de fixer de manière absolue la durée de l'évolution asexuée de cet hématozoaire.

Cependant, le pourcentage des formes en segmentation par rapport aux autres formes, pratiqué chez le même animal, durant plusieurs jours consécutifs, semble indiquer que la schizogonie a lieu en quarante-huit heures, comme pour l'hématozoaire de la tierce bénigne de l'homme.

Le *Plasmodium* de *Macacus rhesus* et *Macacus lasiotis tche-liensis* du Tonkin est nettement différent de *Plasmodium Kochi* Laveran 1899 (1), *Plasmodium pitheci* Halberstædter et Prowazek 1907 (2), et *Plasmodium brasilianum* Gonder et von Berensberg-Gossler 1908 (3).

Il paraît identique à *Plasmodium inui* décrit par Halberstædter et Prowazek chez le *Macacus cynomolgus* et *nemes-trinus* des Indes néerlandaises, auquel a été rattaché *Plasmodium cynomolgi*, découvert par Mayer (4) chez un *Macacus cynomolgus* provenant de Java.

Il ne détermine pas l'hypertrophie du globule, mais une altération de l'hématie, qui se traduit par la formation de

(1) LAVERAN, *Cinquantenaire de la Société de Biologie*. Volume jubilaire. Paris. 1899, p. 127.

(2) HALBERSTOEDTER et PROWAZEK, *Arb. a. d. kaiserl. Gesundh.*, t. XXVI, 1907.

(3) GONDER et VON BERENBERG-GOSSLER, *Arch. f. Protistenk.*, t. XVI, 1908.

(4) MAYER, *Mediz. klinik*, 1907, n° 20.

granulations de Schüffner. Ce caractère, non signalé chez *Plasmodium inui*, mais seulement chez *Plasmodium cynomolgi*, n'a pas, à notre avis, une importance primordiale, puisqu'il paraît dépendre du colorant employé.

L'hématozoaire du Macaque du Tonkin, comme *Plasmodium inui*, a des schizontes à 16 mérozoïtes; son évolution se fait approximativement en quarante-huit heures, et, dans l'infection expérimentale, la période d'incubation est de onze jours en moyenne.

Si ce parasite, par certains caractères, se rapproche de la tierce bénigne de l'homme, il présente dans son cycle évolutif des formes rappelant *Plasmodium præcox* et *Plasmodium malariae*, et, comme ces derniers, n'amène pas l'hypertrophie du globule.

#### EXPLICATION DE LA PLANCHE I.

De 1 à 20, coloration au Giemsa.

De 20 à 40, coloration au Leishman.

Toutes les figures sont représentées au même grossissement (1.800 diamètres).

- 1 . . . . . Hématie normale du singe.
- 2, 3. . . . Jeunes schizontes.
- 4, 5, 6 . . Schizontes en voie de développement.
- 7 . . . . . Début de la segmentation.
- 8 à 14. . . Stades successifs de la segmentation.
- 15. . . . . Segmentation complète (16 éléments).
- 16, 17, 18. Macrogamètes.
- 19, 20. . . Microgamétocytes.
- 21, 22. . . Jeunes schizontes.
- 22 à 30 . . Schizontes à divers stades de développement.
- 23, 25, 27. Présence de granulations de Schüffner.
- 24. . . . . Schizonte en bandeau.
- 31 à 35 . . Stades successifs de la segmentation.
- 36, 37. . . Macrogamètes.
- 38, 39, 40. Microgamétocytes.

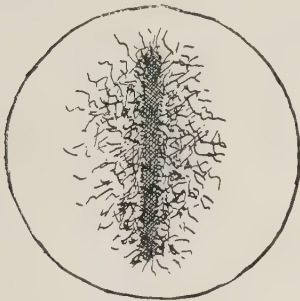


Fig. 1 A

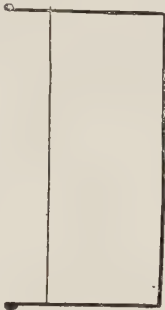


Fig. 1 c

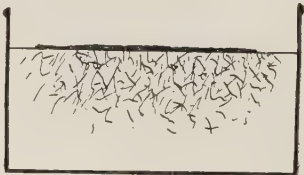


Fig. 1 B

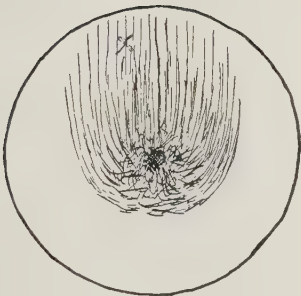


Fig. 2 A

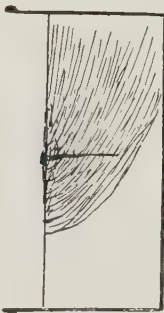


Fig. 2 c



Fig. 2 B

Fig. 3 A

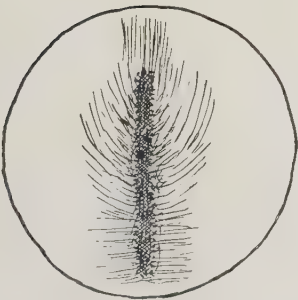


Fig. 3 c



Fig. 3 B







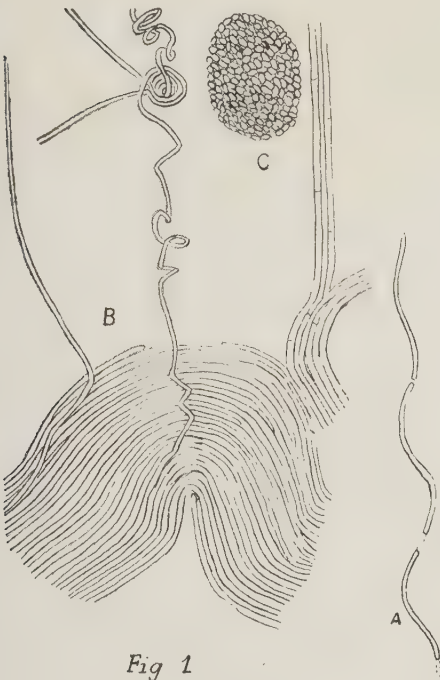


Fig 1



Fig. 2B

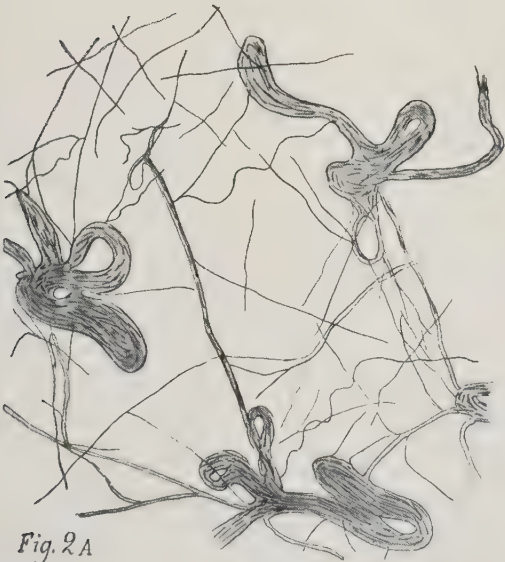


Fig. 2A



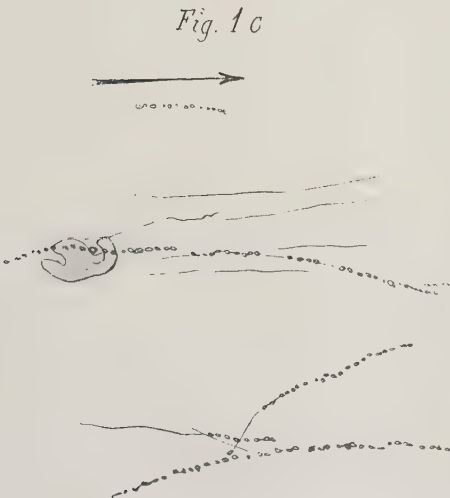
Fig. 2C.



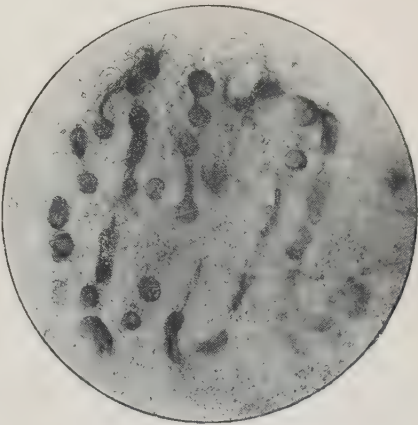




*Fig. 1 B*



*Fig. 2*



Imp. Bouchet, Cusset.



## NOTE SUR LES TROPISMES DU *BACTERIUM ZOPFII* "KURTH"

par H. KUFFERATH

Ingénieur agricole, docteur en sciences naturelles  
Assistant à l'Institut Pasteur du Brabant à Bruxelles.

(Avec les Pl. II, III, IV.)

(Travail de l'Institut Pasteur du Brabant.)

Le *Bacterium Zopfii* cultivé sur gélatine maintenue verticalement, pour autant que la couche de gélatine soit assez épaisse, a la propriété de donner des filaments plus ou moins verticaux dirigés en sens opposé à celui de la direction de la pesanteur.

Ce curieux phénomène a, depuis quelques années déjà, attiré l'attention de divers chercheurs. Les explications qui furent données du mode de croissance tout particulier du *B. Zopfii* sont variées. En dernière analyse, elles attribuent à ce microbe la propriété de réagir à des actions mécaniques ou physiques externes; autrement dit, elles ont permis de considérer cet organisme comme réagissant par des tropismes.

La conception que l'on s'est formée de ces tropismes n'a cessé de varier, et il n'est pas sans intérêt de rappeler brièvement les diverses opinions qui furent émises à ce propos.

Boyce et Evans [1] (\*) signalent chez *B. Zopfii* du géotropisme négatif. C'est la première explication: la disposition caractéristique des filaments, obtenue dans la gélatine, est déterminée par la pesanteur et la force centrifuge.

Un an après, en 1894, le professeur Beijerinck [2] émet l'idée que ces formations ont pour cause la très grande sensibilité du *B. Zopfii* à des différences de température. Les filaments suivent exactement les parties de la gélatine qui sont les plus chaudes.

En 1903, M. Zikes [3] étudie à nouveau le phénomène; il

(\*) Les chiffres entre crochets se rapportent à l'index bibliographique.



s'élève contre l'explication de Beijerinck et admet le géotropisme comme cause active. En 1906, le même auteur [4] revient sur ce sujet et pense, d'après ses expériences, qu'il s'agit non de géotropisme, mais de géotaxisme négatif, au sens de Wiesner, interférant avec des actions chimiostatiques dues aux substances émises par la bactérie dans la gélatine.

Presque en même temps, E. Sargent et Jacobsen publièrent des mémoires intéressants accompagnés de photographies et de dessins instructifs.

Dans son premier mémoire, Sargent [6] conclut à l'action du géotropisme négatif, mais il y aurait, « en dehors du tropisme commandé par la pesanteur, des réactions dues à des tropismes provoqués par des forces qui semblent conditionnées par le voisinage d'élévures à la surface de la gélatine ». Il rattache à l'attraction produite par des élevures à la surface de la gélatine celle due au voisinage des parois de verre des flacons et tubes de culture.

Reprenant cette question, Sargent, dans son deuxième mémoire [7], confirme les vues de Jacobsen par diverses expériences; il conclut ainsi :

« Mes expériences confirment donc l'existence chez le *Bacterium Zopfii* d'une sensibilité particulière à la propriété d'élasticité possédée par la gélatine (élasticotropie). »

« Quand la gélatine est étirée, les filaments suivent la direction de la force de tension. »

« Quand elle est comprimée, les filaments suivent une direction perpendiculaire à la force de pression, ou, mieux, la culture est nulle. »

Jacobsen [5], sous la direction du professeur Beijerinck, apporta de nouvelles et importantes contributions à cette question. Pour lui, il faut considérer l'influence du facteur température sur la disposition des filaments, et il appuie cette opinion par des expériences, mais il ne s'attache guère à pousser ses recherches dans cette voie.

L'opinion de Jacobsen peut se résumer comme suit : la disposition caractéristique des filaments du *Bact. Zopfii* est due à une force (élasticotropisme) se combinant avec un thermotropisme déterminé par les parois des vases de culture.

Le fait intéressant qu'établit Jacobsen est que le *B. Zopfii*

réagit à des tractions de la gélatine. Il propose d'appeler ce phénomène élasticotropisme. Des expériences ingénieuses, accompagnées de dessins, montrent combien grande est l'influence de la gélatine sur la disposition des filaments de la bactérie.

D'après les expériences des auteurs précédents, la force agissant sur la gélatine était la pesanteur ou la force centrifuge. Jacobsen, en étirant ou comprimant la gélatine de diverses manières, a déterminé dans celle-ci des équilibres et des tensions n'ayant aucun rapport avec ceux dus à la pesanteur. Il a montré que, dans ces conditions, le *B. Zopfii* modifie la disposition de ses filaments, tantôt perpendiculairement à la force de pression, tantôt parallèlement à la force de traction. C'est là une preuve bien établie que *dans la gélatine* les filaments du *B. Zopfii* croissent dans des directions déterminées par l'état d'équilibre de cette gélatine.

Jacobsen, de plus, a montré que des variations de la quantité d'eau en des endroits différents de la gélatine produisent dans celle-ci des tractions qui déterminent la direction des filaments du microbe.

Dans la dernière partie de son travail, Jacobsen montre que cette propriété de produire des filaments dans la gélatine est commune à diverses bactéries, liquéfiantes ou non, et que l'on pourrait établir parmi les microbes un groupe de bactéries caractérisées par leurs propriétés élasticotropiques.

Ph. Eisenberg [8] a montré que, dans des conditions bien déterminées le bacille du charbon possède des propriétés élasticotropiques. Bien que la manifestation de cette propriété du *Bacillus Anthracis* ne soit pas très marquée, il est pourtant intéressant de rapprocher l'aspect des colonies superficielles du charbon et celles du *B. Zopfii* sur la gélatine. Dans l'un et dans l'autre cas, nous assistons à la formation de colonies étalées dans lesquelles les filaments se placent parallèlement les uns aux autres selon le plan de la surface de la gélatine (Pl. III, fig. 4 B).

La propriété de produire des arborisations existe chez diverses bactéries; elle a été mise en évidence pour un bacille thermophile par Catterina [11], et chez divers bacilles du

groupe *Bacillus mycoides* Flügge par Holzmüller [12] notamment. Gruber [13] a décrit chez *Pseudomonas Fragariæ* des ramifications sur gélatine. L'aspect caractéristique des colonies du *Bacillus Anthracis* est trop connu pour qu'il y ait lieu d'insister longuement sur ce point.

Non seulement les cultures sur gélatine, mais aussi les cultures sur gélose, présentent des ramifications des colonies. Sur ce dernier milieu, divers microbes peuvent donner des cordons ramifiés de filaments; nous l'avons constaté pour *B. muscoides*, *Proteus mirabilis*, *P. Zenkeri*, *P. vulgaris*, *B. Zopfii*.

Il existe une grande différence entre les cultures sur gélose et celles sur gélatine. Dans les premières, les microbes à ramifications et particulièrement *B. Zopfii* ne pénètrent pas dans le milieu. La colonie ne se développe que superficiellement. Au contraire, la pénétration des filaments de ce dernier microbe dans la gélatine est aisée. Il faut évidemment attribuer cette manière différente de se comporter pour un même organisme à la nature du milieu nutritif.

Les différences sont grandes entre les milieux gélosés et gélatinés, rien qu'au point de vue physique par exemple. Ainsi la gélatine est élastique, la gélose se brise dès qu'on l'étire; d'autre part, la gélose perd facilement une partie de l'eau qu'elle renferme (eau de condensation), ce que la gélatine ne fait pas. Ce sont là des faits familiers aux bactériologistes.

Les filaments du *B. Zopfii* sur gélose ne pénètrent pas dans le milieu nutritif; c'est comme si les microbes trouvaient à la surface de la gélose un obstacle à leur pénétration. Il est difficile de décider si cet obstacle est dû à la constitution même de la gélose (au doigt la gélose est beaucoup plus dure que la gélatine) ou à la dessiccation de la surface en contact avec l'air. Faisons remarquer que l'on ne connaît que quelques organismes liquéfiant la gélose; la digestion de celle-ci doit en effet préparer et faciliter la pénétration des microbes dans le milieu; or ce phénomène n'existe pas pour les microbes étudiés. La digestion de la gélatine par les microbes (liquéfaction), au contraire, est un phénomène des plus remarquables observé pour de nombreux microorganismes.

Nous avons vu, tout en faisant l'historique de la question, le rôle important joué par la gélatine dans la détermination de la



direction des filaments du *B. Zopfii*. Les conclusions de Jacobsen et de Sergent permettent de dire que cette bactérie doit aux propriétés élastiques de la gélatine sa manière de se comporter dans ce milieu. Il nous faudra considérer le facteur gélatine et le facteur microbe pour expliquer ce phénomène. Quel est le rôle joué par l'un et l'autre de ces facteurs dans la réalisation de colonies d'arborisations ramifiées dans les cultures sur gélatine? C'est ce que nous allons examiner.

Comme nous l'avons vu, l'action de la gélatine a bien été déterminée par Jacobsen; grâce à ses propriétés élastiques, la gélatine est tendue sous l'influence d'une force, la pesanteur par exemple. Par suite des tractions résultant de cette force, on considère qu'il se produit dans la gélatine des couches stratifiées plus ou moins denses. La forme et la direction de ces couches détermine la direction des microbes qui pénètrent dans la gélatine.

Supposons qu'une cellule de *B. Zopfii* se trouve engagée entre deux couches de gélatine, ces couches étant séparées par une autre de densité moindre. Les conditions étant favorables, la bactérie se développe, s'allonge et, en se multipliant, donne naissance à un filament formé d'un chapelet de cellules placées bout à bout. Ce filament est engagé entre deux couches denses de gélatine; ces couches offrent une résistance à la croissance du microbe; aussi le filament se développe-t-il seulement dans la couche moins dense qui forme comme un couloir limité par les couches de densité supérieure.

Les microbes prospèrent dans des veines « de moindre résistance » et l'ensemble de ces veines remplies de bactéries donne l'image de jolies arborisations observées pour le *B. Zopfii*. Ce phénomène dépend des propriétés de la gélatine et la disposition des filaments n'est due qu'aux tensions qui se manifestent dans ce milieu sous l'influence de diverses forces (pesanteur, tractions, pressions, torsions, etc.).

Ces phénomènes ne seraient pourtant pas possibles si le *B. Zopfii* ne possédait la propriété de réagir à des actions externes. Ainsi, l'on doit admettre que dans la gélatine ce microbe perçoit des différences de compacité, de résistance à la pénétration entre les diverses couches de ce milieu soumis à

l'action de la pesanteur, etc... Nous aurions alors un phénomène analogue à celui qui fut observé pour certains infusoires (Rothert, Jennings) et pour les zoospores de myxomycètes (Kusano). Ces organismes sentent des différences de concentration chimique dans un même milieu et ne peuvent s'écarter des zones dans lesquelles ils ont pénétré, grâce à leur sensibilité chimiotaxique.

Pour le *B. Zopfii* il y aurait sensibilité à des différences de compacité de la gélatine, autrement dit sensibilité de contact.

Il est aussi permis de penser que les veinules créées dans la gélatine par diverses forces (pesanteur, etc.) sont plus ou moins riches en eau. Les veines les plus riches en eau renferment une gélatine moins concentrée, plus fluide que celle des zones environnantes. La bactérie n'est-elle pas attirée par l'eau que renferment ces veines plus aqueuses? Ce serait un phénomène d'hydrotropisme que l'on peut rapprocher d'autres qui furent bien étudiés. On voit en effet que l'eau détermine des orientations chez beaucoup d'organismes végétaux. C'est ainsi que le professeur L. Errera [14] a montré que l'hygroscopicité de barres d'acier provoque des courants de vapeur d'eau qui déterminent la courbure des filaments aériens de *Phycomyces*, observée par Elfving.

Ce qui caractérise le *B. Zopfii*, c'est, en premier lieu, de donner des filaments de cellules placées bout à bout et qui conservent dans leur ensemble une forme rigide (Pl. III, fig. 1 A); ensuite, la faculté que possède ce microbe de pénétrer dans la gélatine, tout en ne la liquéfiant pas.

Les filaments qui se développent à la surface de la gélatine ont un aspect caractéristique : ou bien ils sont isolés et alors parfois ondulés sans que l'on remarque de désarticulation de l'ensemble (Pl. III, fig. 1 A), ce que Swellengrebel [9] décrit en ces termes : « Les bâtonnets sont réunis en longues chaînes ondulantes, dans lesquelles on ne peut souvent retrouver les différents individus », ou bien ils forment de larges colonies étalées dont tous les filaments sont parallèles les uns aux autres. Ici encore, nous voyons qu'une file de filaments (Pl. III, fig. 1 B) ne se désarticule pas.

Ce mode de croissance tout particulier, qu'on ne trouve pas

chez d'autres bactéries, ne se manifeste pas toujours pour les filaments qui ont pénétré dans la gélatine.

S'il y a des filaments qui ne se désarticulent pas, on rencontre souvent dans la gélatine des colonies de forme arrondie constituées par des cellules courtes et non filamenteuses (Pl. II, fig. C). Ces formes du microbe ont été considérées, soit comme des cocci, soit comme des arthrospores (Lafar, *Technische Mykologie*, Bd I, p. 124-125). Ces colonies sphériques se forment volontiers sur le passage des filaments qui ont pénétré dans la gélatine; elles sont en général plus abondantes et plus volumineuses près de la surface de la gélatine.

La pénétration du *B. Zopfii* dans la gélatine se fait perpendiculairement à la surface de la gélatine, ainsi que le montrent les fig. 2 C et 3 C. Pl. II. Ce phénomène est tout à fait net vers le bas des cultures, là où les phénomènes de tension de la gélatine sont les moins actifs.

La rigidité des filaments du *B. Zopfii* est telle que l'on en observe qui poussent au-dessus de la surface de la gélatine, ne conservant que quelques points de contact avec celle-ci. On voit (Pl. III, fig. 4 B) qu'un filament d'une colonie superficielle est soulevé au-dessus de ses voisins disposés selon le plan de la surface de la gélatine. Cette action est sans doute due à la compression latérale produite par les filaments de la colonie. compression qui a pour conséquence de faire sortir le filament du plan formé par les filaments de la colonie. Le filament ainsi isolé de ses voisins continue sa croissance; par suite de sa pesanteur, il ne reste pas droit, mais s'abaisse; il arrive ainsi à pousser au-dessus de ses voisins et s'écarte de la colonie. Il arrive bientôt en contact avec la gélatine.

Tant que le filament reste plus ou moins parallèle à la surface de la gélatine, il ne peut la pénétrer, il glisse sur cette surface. Mais lorsque le filament, à la faveur d'un enroulement qui lui sert de point d'appui, présente son grand axe perpendiculairement à la surface, il perce celle-ci et pénètre dans le milieu grâce à sa rigidité.

Une fois entré dans la gélatine, le filament subit l'influence du milieu et est obligé de suivre la voie qui lui est tracée par les phénomènes de tension propres à la gélatine, ainsi que nous l'avons signalé plus haut.



Ces constatations permettent d'expliquer tous les phénomènes de tropisme attribués au *B. Zopfii*. De nombreux arguments permettent de considérer cette explication comme vraie.

L'examen macroscopique des colonies du *B. Zopfii* sur gélatine fournit un certain nombre de faits intéressants.

Alors que les cultures sur gélatine maintenues horizontalement donnent un fouillis de filaments dirigés en tous sens, les cultures maintenues verticalement ont l'aspect typique décrit par les auteurs.

Nous avons utilisé pour nos cultures de grands cristallisoirs profonds, où la couche de gélatine avait 4 à 5 centimètres d'épaisseur. Après avoir laissé la gélatine se figer, nous avonsensemencé, soit en piqûre au centre du cristallisoir, soit en strie selon son diamètre. Après quoi les cultures étaient maintenues verticalement.

Nous avons noté l'aspect macroscopique des cultures ayant poussé dans ces conditions. Voyons en détail ce qui se passe pour chaque mode d'inoculation du microbe.

*Piqûre centrale.* Le développement du *B. Zopfii* est très rapide. Au bout de deux jours, à la température de 20 à 22° C, la colonie a atteint son plein développement. A partir de l'endroit de l'inoculation, la colonie s'est étendue de tous les côtés. On remarque immédiatement l'aspect caractéristique des filaments qui croissent dans la gélatine. Ces filaments sont nettement dirigés vers le haut (Pl. II, 2 C).

Il apparaît visiblement qu'à côté du développement caractéristique de la colonie dans une direction opposée à celle de la pesanteur, il y a eu une croissance superficielle énergique en tous sens; dans le cas présent, la colonie s'est étendue circulairement environ à un centimètre du point d'inoculation. Voilà donc que dans une même colonie les microbes poussent tantôt dans une direction opposée à celle, de la pesanteur, tantôt dans toutes les directions, toutes autres conditions étant égales. Cela devient incompréhensible dans l'hypothèse où l'on admet que *B. Zopfii* est négativement géotropique. En réalité, à la surface de la gélatine, les filaments poussent indifféremment dans toutes les directions, ainsi que nous le constatons plus loin.

Le trajet des filaments dans la gélatine indique la direction

des lignes de force et de tension de ce milieu maintenu verticalement. Cet aspect, si caractéristique, est tout à fait indépendant de la nature du microbe; il est bien expliqué par les expériences et les conclusions de Jacobsen et de Sergent.

Remarquons la disposition des filaments qui ont pénétré dans la gélatine (Pl. II, 2 C). Dans le bas de la culture, au début de la pénétration dans le milieu solide, des filaments sont dirigés perpendiculairement à la surface de la gélatine. Au fur et à mesure que le développement du filament se poursuit, il s'incurve de plus en plus vers le haut. Dans les parties supérieures des cultures maintenues verticalement, les filaments semblent se diriger immédiatement dans une direction opposée à celle de la pesanteur (Pl. II, 2 A et 2 C); la verticalité et l'allure de ces filaments est due à la forte tension d'étirement que subit la gélatine en cet endroit. Ces circonstances modifient complètement la marche des filaments dans la gélatine, ainsi qu'on l'observe dans la partie inférieure de la culture.

*Strie verticale.* L'aspect général rappelle celui de la culture qui vient d'être décrite. Au bas de la strie (Pl. II, 3 A), les filaments enfouis dans la gélatine ne sont plus verticaux, ils sont horizontaux, ce qui se comprend. En cet endroit, la gélatine est comprimée du haut en bas, et, ainsi que l'ont montré Jacobsen et Sergent, dans ces conditions, les filaments suivent une direction perpendiculaire à la force de pression.

Tout au contraire, à l'extrémité supérieure de la strie (Pl. II, 3 A), la gélatine est fortement tirée, les filaments suivent la direction de la force de tension.

Entre ces deux positions extrêmes, les filaments se trouvent dans toutes les positions intermédiaires.

En profondeur (Fig. II, 3 C), les filaments se développent comme nous l'avons montré précédemment. Il est à remarquer que, dans le bas de la culture, les filaments restent presque horizontaux et ne s'incurvent que légèrement vers le haut. Jacobsen (Fig. 3, p. 56, ouvrage cité [5]) figure une disposition analogue des filaments poussant dans la gélatine.

L'étude de l'aspect macroscopique des cultures du *B. Zopfi* sur gélatine nous permet de distinguer, d'une part, la croissance superficielle de ce microbe, croissance qui se fait dans toutes les directions, et celle des filaments dans la gélatine. La

direction de ces filaments dans la gélatine est facilement expliquée au moyen des théories de Jacobsen et de Sergent.

Examinons maintenant l'aspect microscopique des colonies superficielles et profondes du *B. Zopfii* obtenues dans nos cultures.

Dans les cultures sur gélatine, maintenues horizontalement, nous observons que la surface de la gélatine est couverte d'un réseau irrégulier de filaments se croisant en tous sens. Dans ce réseau se forment de place en place des colonies à contours flexueux (Pl. III, fig. 2 A). Les filaments se développent au hasard dans toutes les directions.

A 0,3 millimètre dans la gélatine, on observe que les filaments microbiens (Pl. III, fig. 2 B) sont également dirigés en tous sens; de temps en temps, on voit des colonies arrondies, petites, jalonnant les filaments.

A 4 millimètres sous la surface, les filaments sont plus rares. Ici encore, on observe qu'ils sont dirigés en tous sens, d'une manière indifférente (Pl. III, fig. 2 C).

Examinons de même une culture maintenue verticalement. Prenons un endroit, à la partie supérieure de la culture, où à l'œil nu tous les filaments paraissent verticaux (Pl. II, fig. 2 A).

Nous voyons (Pl. IV, fig. 1 A) que la surface de la gélatine est couverte de filaments dirigés dans tous les sens. De grandes colonies à bords sinueux rappellent ce que nous avons vu pour les cultures maintenues horizontalement. De plus, nous constatons qu'il y a de nombreux filaments dont la direction ne correspond pas avec celle de la verticale. Ces filaments, quand ils sont enfouis sous la surface de la gélatine, obéissent aux tensions de ce milieu (Pl. IV, fig. 1 A), et sont jalonnés de petites colonies rondes (Pl. III, fig. 1 C). Ce sont les colonies situées immédiatement sous la surface de la gélatine (1) qui, par leur réunion, produisent les arborisations si spéciales des cultures du *B. Zopfii*, que l'on trouve dans tous les traités de bactériologie et qui sont désignées en allemand comme wurstartige Formen.

(1) LEHMANN et NEUMANN, dans leur *Traité de bactériologie* (1<sup>re</sup> partie, 1904 tab. B XII), écrivent au sujet des cultures du *B. Zopfii* sur gélatine : « Les formations tuberculeuses..., qui forment souvent des rubans, se trouvent dans la profondeur du milieu de culture. »

Comparant les cultures maintenues verticalement et les cultures horizontales, nous ne trouvons entre elles que peu de différences, à ne considérer que les cultures superficielles.

L'aspect des cultures dans la gélatine présente par contre de grandes différences. Alors que pour les cultures horizontales nous avons observé des filaments dirigés en tous sens, nous voyons à 5 millimètres sous la surface des cultures maintenues verticalement, que les filaments microbiens sont orientés selon la verticale (Pl. IV, fig. 1 B).

Les filaments apparaissent au microscope comme des rangées de petits grains; ces filaments sont sinueux et il en est quelques-uns qui ont des directions plus ou moins obliques par rapport à la verticale. Au fur et à mesure que les filaments pénètrent dans la gélatine (Pl. IV, fig. 1 C), on voit leur obliquité s'atténuer, leur direction finit par se confondre avec celle de la verticale. L'aspect des cultures à 4 et à 8 millimètres sous la surface (Pl. IV, fig. 1 C) diffère totalement de celui de la culture horizontale à la même profondeur (Pl. III, fig. C).

L'examen microscopique nous a permis de préciser le fait que nous avons signalé : la croissance superficielle du *B. Zopfii* sur gélatine se fait dans toutes les directions, quelle que soit la position de cette surface. D'autre part, *dans* la gélatine maintenue verticalement, les filaments poussent suivant les directions déterminées par les phénomènes d'équilibre et de tension qui s'établissent dans le milieu. Pourtant la direction de ces filaments, qui coïncide à peu près avec celle de la pesanteur, n'est pas constante. On voit qu'il y a des filaments obliques ou perpendiculaires à la verticale (Pl. IV, fig. 1).

Ces faits sont en contradiction avec l'hypothèse d'une force de géotaxisme négatif. La réaction à la pesanteur paraissant devoir être la même pour chacune des cellules de la colonie, on ne peut s'expliquer les directions variées prises par les filaments dans la gélatine, et encore moins celles de la culture superficielle. On devrait admettre qu'il y a des cellules ne subissant pas l'action de la pesanteur, ou bien qu'il se produit des interférences avec d'autres actions. Mais on ne voit pas bien alors pourquoi certaines cellules obéiraient à la pesanteur alors que d'autres, peu distantes des premières, obéissent à un ensemble de forces dont la pesanteur ne serait qu'une des composantes.



De toutes les explications qui furent données des tropismes du *B. Zopfii*, aucune ne satisfait. La nature même du tropisme est des plus discutées, puisque les uns en font du géotropisme ou du géotaxisme négatif, d'autres du thermotropisme, d'autres de l'élasticotropisme : on a invoqué une certaine attraction par le verre (1), du chimiotropisme, etc...

Ce qui frappe, dès l'abord, c'est que ces tropismes ne se manifestent que pour un milieu de culture bien défini, la gélatine. Il n'est pas probable que l'on puisse attribuer ces phénomènes au géotropisme négatif; nous avons vu que les faits ne concordent pas avec une telle hypothèse. Des filaments très voisins du *B. Zopfii* sont les uns dirigés verticalement, les autres horizontalement.

Remarquons que pour les plantes l'action de la pesanteur est égale et constante pour un même organe. Ainsi la racine de haricot se dirige vers le centre de la terre, qu'elle soit placée dans l'air humide, dans du sable, dans du son, dans le mercure. Le géotropisme est inhérent au végétal, et quelles que soient les conditions d'existence, il se manifeste d'une façon constante et régulière.

On peut se demander comment il se fait que ces tropismes du *B. Zopfii* ne se manifestent pas dans les cultures sur gélose, ou même dans les cultures sur gélatine étalée en plaque mince. On ne comprend pas ces nombreuses exceptions et l'on ne voit pas pourquoi le même microbe se comporte de façons si différentes.

Peu d'exemples d'action géotaxique sur les microbes sont connus. J. Behrens (2) écrit : « Einen Einfluss der Schwerkraft auf die Bewegung der Bakterien fand bisher nur Massart (3), für einige marine Spirillen, von denen die eine negativ, die andere als positiv geotaktisch sich erwies. »

Quelle peut-être l'utilité pour un microbe de posséder un

(1) E. SERGENT (1<sup>er</sup> mémoire, 1906, p. 1014) s'exprime comme suit :

L'épaisseur de la couche de gélatine est de quelques millimètres. « Dans ces conditions, la culture verticale se fait en arborisations en tous sens et ne peut pas se distinguer d'une culture horizontale : ni l'action de la pesanteur, ni celle des élevures ne se font sentir. Peut-être peut-on interpréter ce résultat par l'influence, à travers la mince couche de gélatine, du voisinage de la paroi de verre. »

(2) J. BEHRENS, dans *Lafar Technische Mykologie*, Bd I, p. 481.

(3) *Bull. Ac. Roy. de Belgique*, 1891, 3<sup>e</sup> série, vol. XXII, p. 158.

géotropisme négatif? Bien qu'il soit difficile de répondre à une telle question, nous pouvons constater que le *B. Zopfii* est un microbe de putréfaction. Comme tel, il doit avoir avantage à pénétrer partout dans les matières qu'il exploite. Nous avons vu qu'en gélatine maintenue horizontalement, les filaments microbiens fouillent tout le milieu. C'est avantageux et compréhensible. On ne voit pas quels bons arguments on ferait valoir pour expliquer l'avantage qu'aurait le *B. Zopfii* à réagir à la pesanteur. N'est-il pas bien plus utile pour accomplir son important rôle de microbe qu'il se faufile partout, qu'il pénètre dans les coins et recoins des matériaux à détruire? Nous trouvons l'indication de telles aptitudes dans la position des filaments dans la gélatine.

Ces quelques objections montrent que les hypothèses et explications des tropismes du *B. Zopfii*, émises par divers auteurs, ne permettent pas de se rendre exactement compte du phénomène. Nous avons essayé d'apporter quelques éclaircissements à la question.

Nous avons vu qu'en fin de compte on devait attribuer au *B. Zopfii* de la sensibilité au contact (haptotropisme) et sans doute aussi de l'hydrotropisme. Sergent [6] avait déjà posé la question et se demandait si l'influence des élevures relève de phénomènes dus à l'hygroscopicité ou à d'autres causes. Nous pensons que si le microbe est attiré par l'eau, c'est par celle qui se trouve dans les couches les moins denses de la gélatine.

Si nous admettons l'existence de ces propriétés chez le *B. Zopfii*, nous pourrions expliquer les phénomènes observés pour ce microbe. Il faut que certaines conditions se réalisent tant pour la bactérie que pour le milieu de culture. Passons-les rapidement en revue.

Nous avons déjà fait remarquer la rigidité que possèdent les filaments du *B. Zopfii*. Ces filaments restent entiers, sont droits ou sinueux, mais ne se fragmentent pas, au début de la culture du moins, en leurs éléments constitutifs. Or, c'est là un fait capital. La plupart des microbes ne poussent pas ainsi; pour le *colibacille*, par exemple, les cellules se séparent les unes des autres. Les filaments des champignons présentent un aspect tout différent, ils restent rigides (turgescence, solidité de la paroi). Grâce à cette propriété, il se forme des colonies ramifiées dont

l'aspect général se rapproche de celui des colonies du *B. Zopfii*. Mais alors que ce dernier organisme est plus plastique, il peut s'enrouler facilement sur lui-même de manière à former des nœuds, des volutes, les champignons conservent leur rigidité qui les empêche de se replier sur eux-mêmes, au moins dans les cellules végétatives. On trouve de pareils enroulements par exemple dans la formation des zygotes, ainsi que le montrent les figures classiques de la formation du périthèce de *Penicillium glaucum*.

Les filaments du *B. Zopfii* possèdent donc une plasticité telle que, tout en restant rigides et entiers, ils peuvent facilement s'enrouler sur eux-mêmes. Ces propriétés ne sont pas spéciales au *B. Zopfii*; elles se retrouvent chez des microbes voisins tels que *B. mycoïdes* Flügge, divers *Proteus*, *B. Anthracis*, etc...

La forme du microbe est un élément qu'il faut également considérer. Alors que, exception faite pour quelques streptocoques, il n'y a pas un seul microbe de forme arrondie (*Coccus*, *Streptococcus*, *Sarcina*, levures) qui donne des colonies à ramifications, on observe que précisément les microbes donnant des colonies ramifiées sont tous du type bacillaire. Par exemple, *B. Zopfii*, *Proteus Zenkeri*, *P. mirabilis*, *P. vulgaris*, les diverses races du *B. mycoïdes*, *B. Anthracis*. Ces constatations permettent d'affirmer que la forme du microbe est un élément important dans la constitution des colonies ramifiées. Les microbes se développant en donnant des ramifications ont tous la propriété de conserver leurs filaments entiers. Ce phénomène se retrouve d'ailleurs chez des algues vertes filamenteuses, *Stichococcus flaccidus* entre autres, chez des Oscillaires qui donnent des colonies en forme de boucles (Pl. IV, fig. 2).

Nous avons vu que les colonies superficielles sinueuses du *B. Zopfii* sont constituées par des filaments entiers, parallèles les uns aux autres, et que dans les colonies profondes, sphériques, le *B. Zopfii* prend une forme de coccobacille. Ces faits viennent encore confirmer les vues que nous venons d'exposer, la relation qu'il y a entre la forme du microbe et la forme de sa colonie.

L'observation minutieuse des colonies superficielles du *B. Zopfii* nous a montré que la croissance de ce microbe se fait en tous sens, quelle que soit la position de la surface de la

gélatine. Ce mode de croissance, qui se manifeste même dans les endroits où les filaments paraissent le plus négativement géotropiques, permet au *B. Zopfii* de former des colonies étendues dont le développement n'est pas influencé par l'action de la pesanteur.

Enfin mes observations ont permis de déterminer le mode de pénétration du *B. Zopfii* dans la gélatine. Cette pénétration se fait perpendiculairement à la surface de la gélatine. Il est probable que les zymases sécrétées par le microbe facilitent sa pénétration dans le milieu, mais l'action de ces zymases n'est que locale, vu que le *B. Zopfii* ne liquéfie pas la gélatine. Il est évident qu'un bacille tel que *B. mycoïdes*, qui est un liquéfiant énergique, pénètre par les mêmes moyens dans la gélatine. C'est d'ailleurs un fait connu que les filaments de ce microbe pénètrent d'abord dans la gélatine, qui ne se liquéfie qu'ultérieurement. La pénétration de ces microbes dans la gélose ne se fait pas, attendu qu'ils ne digèrent pas cette substance.

Il y a lieu de distinguer chez le *B. Zopfii* la croissance des colonies à la surface de la gélatine et la croissance dans ce milieu.

Pour que les tropismes du *B. Zopfii* puissent se manifester, il faut le cultiver sur gélatine. Nous ne reviendrons pas sur la croissance de ce microbe dans ce milieu. Les phénomènes qui se produisent dans ces conditions ont été bien mis en lumière, et l'on peut les résumer en disant que les équilibres de tension de la gélatine déterminent la direction des filaments, ainsi que l'ont montré Jacobsen et Sergent.

Nous terminons en interprétant quelques expériences qui furent réalisées antérieurement avec le *B. Zopfii*.

On sait, c'est là une expérience fondamentale, que les tropismes du *B. Zopfii* apparaissent lorsque la gélatine placée verticalement a une certaine épaisseur. Quand la couche de gélatine est mince (quelques millimètres seulement) le phénomène ne se produit pas.

Dans l'hypothèse du géotropisme négatif des filaments, toute explication de ces deux faits contradictoires en apparence doit échouer. Sergent a bien invoqué des attractions dues au verre à travers la couche de gélatine, mais ce n'est là qu'une hypo-



thèse. En fait, on ne voit pas pourquoi le même microbe, cultivé sur le même milieu, se comporte de façons si différentes.

Dans le cas présent, nous pensons que *B. Zopfii* se développe dans tous les cas à la surface de la gélatine et forme un réseau de filaments disposés en tous sens. En disant cela, nous ne faisons que constater les faits. Parmi ces filaments, il en est qui pénètrent dans la gélatine. Lorsqu'il y a une couche épaisse de gélatine, celle-ci peut se tasser; il se produit des lignes de force dues à la pesanteur, elles déterminent la direction des filaments qui ont pénétré dans la gélatine. Par contre, lorsque la gélatine est en couche mince, ces filaments pénètrent encore dans le milieu, mais sa faible épaisseur empêche la formation de tensions dans la gélatine. Les lignes de force ne se produisent pas, il n'est pas possible de constater la formation de ramifications « négativement géotropiques ».

Prenons au hasard une des expériences les plus frappantes de Jacobsen [5], celle représentée dans son travail (p. 56, phot. 1 de la planche). Elle représente l'action de la chaleur sur la formation de ramifications.

On y voit que la colonie est beaucoup plus développée à la partie supérieure, qui a été exposée à 22 degrés centigrades, qu'à la partie inférieure tenue à 12 degrés. Dans cette portion de la culture, le développement est faible, la gélatine étant tenue à une basse température est moins fluide que celle qui est soumise à 22 degrés centigrades. Il en résulte que les phénomènes de tension dans la gélatine à 12 degrés centigrades seront moins marqués que dans la partie supérieure où, en plus de la tension très forte que subit la gélatine, il faut tenir compte de sa fluidité, ce qui augmente encore l'action des forces de tension. C'est ce que montrent les filaments du *B. Zopfii* qui sont bien développés en cet endroit. La température de 22 degrés centigrades est d'ailleurs, d'après Swellengrebel [9], plus favorable à la culture que celle de 12 degrés.

L'expérience de Jacobsen montre qu'à 22 degrés centigrades, le développement de la culture est plus grand, que les forces de tension de la gélatine sont plus grandes, mais ne prouve pas qu'il y ait un thermotropisme des filaments. Si les filaments étaient sensibles à la chaleur, on devrait voir des filaments de

la partie inférieure de la culture se diriger vers les parties plus chaudes, or il n'en est rien.

L'aspect si caractéristique de la photographie de Jacobsen dépend moins du microbe que des propriétés de la gélatine placée dans des conditions spéciales d'expérience.

En terminant, je désire dire à mon maître, M. le professeur J. Massart, toute ma reconnaissance pour les conseils qu'il m'a donnés et pour l'intérêt bienveillant qu'il m'a témoigné au cours de la rédaction de ce travail.

#### BIBLIOGRAPHIE

1. Boyce et Evans. — *Upon the action of gravity on Bacterium Zopfii*. *Proc. Roy. Soc. London*, vol. LIV, 1893, p. 300, et *Centralbl. fur Bakt.* II, Bd 11, p. 59.
2. Beijerinck (M. W.). — *Centralbl. f. Bakt.*, Bd 15, 1894, p. 799.
3. Zikes (H.). — *Die Wachstumserscheinungen von Bacterium Zopfii auf Pepton-gelatine*. *Centralbl. f. Bakt.*, II, Bd 11, 1903, p. 59.
4. Zikes (H.). — *Ueber geolaktische Bewegungen des Bacterium Zopfii*, *Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wissensch. in Wien, Math.-Nat. Klasse*, t. CXV, p. 1, janvier 1906. Résumé dans *Bull. Institut Pasteur*, 1907, p. 19, et *Centralbl. f. Bakt.*, II, Bd 17, p. 347.
5. Jacobsen (H. C.). — *Ueber einen richtenden Einfluss beim Wachstum gewisser Bakterien in gelatine*. *Centralbl. f. Bakt.*, II Bd 17, 1906, p. 53.
6. Sargent (E.). — *Des tropismes du Bacterium Zopfii Kurth*. *Annales de l'Institut Pasteur*, t. XX, 1906, p. 1003.
7. Sargent (E.). — *Des tropismes du Bacterium Zopfii Kurth (2<sup>e</sup> note)*. *Annales de l'Institut Pasteur*, t. XXI, 1907, p. 842.
8. Eisenberg (Th.). — *Ueber elastiko-tropische Erscheinungen beim Wachstum des Bacillus Anthracis und verwandter Bacillen auf Serumnährboden*. *Centralbl. f. Bakt.*, I, Originale Bd 48, p. 123.
9. Swellengrebel (N.). — *Quelques notes sur la morphologie et la biologie du Bacterium Zopfii (Kurth)*. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1904, p. 712.
10. Lafar. — *Technische Mykologie*, 1905, Bd 1.
11. Catterina (G.). — *Centralbl. f. Bakt.*, II, Bd 12, p. 353.
12. Holzmüller (K.). — *Die Gruppe des Bacillus mycoides Flügge*. *Centralbl. f. Bakt.*, II, Bd 23, 1909, p. 304.
13. Gruber (Th.). — *Pseudomonas Fragariz*. *Centralbl. f. Bakt.*, II, Bd 9, 1902, p. 705.
14. Errera (L.). — *Recueil de l'Institut botanique*, t. VI, p. 303-366. Bruxelles. 1906.

## EXPLICATION DES PLANCHES

## PLANCHE II.

FIG. 1, A. — Culture du *Bacterium Zopfi* sur gélatine maintenue horizontalement. Aspect de la colonie vue de face (1/3 grandeur naturelle), âgée de deux jours.

FIG. 1, B. — La même culture vue de côté.

FIG. 2, A. — Culture du *B. Zopfi* sur gélatine maintenue verticalement. Inoculation en piqure. Aspect de la colonie vue de face, âgée de deux jours (1/3 grandeur naturelle).

FIG. 2, B. — La même culture vue du bas.

FIG. 2, C. — La même culture vue de côté.

FIG. 3, A. — Culture du *B. Zopfi* sur gélatine maintenue verticalement. Inoculation en strie. Aspect de la colonie vue de face, âgée de deux jours (1/3 grandeur naturelle).

FIG. 3, B. — La même culture vue du bas.

FIG. 3, C. — La même culture vue de côté.

Toutes ces figures sont schématisées.

## PLANCHE III.

FIG. 1, A. — Filament onduleux poussant dans la gélatine.

FIG. 1, B. — Détail d'une colonie superficielle et filament poussant librement, en s'enroulant sur lui-même, au-dessus de la surface de la gélatine.

FIG. 1, C. — Colonie profonde, sphérique, formée de cellules courtes (gélaline).

Copié à la chambre claire de Nachet, obj. 7, oc. 3.

FIG. 2, A. — Culture sur gélatine maintenue horizontalement, une grande colonie sinueuse sert de repaire pour les dessins suivants. Culture âgée de deux jours.

FIG. 2, B. — Aspect des filaments de la même culture à 0,5 millimètres sous la surface de la gélatine.

FIG. 2, C. — Aspect des filaments de la même culture à 4 millimètres sous la surface de la gélatine.

Copié à la chambre claire de Nachet, obj. 3, oc. 3.

## PLANCHE IV.

FIG. 1, A. — Culture sur gélatine maintenue verticalement. Aspect des colonies superficielles de la culture figurée pl. I, fig. 2, A à l'endroit indiqué par une croix. La flèche indique la direction opposée à celle de la pesanteur. Une colonie superficielle sert de repaire pour les dessins suivants. Culture âgée de deux jours.

FIG. 1, B. — Aspect de la même culture 0,5 millimètres sous la surface de la gélatine.

FIG. 1, C. — Aspect de la même culture à 4 et à 8 millimètres sous la surface de la gélatine.

Copié à la chambre claire de Nachet, obj. 3, oc. 3.

FIG. 2. — Culture sur gélose d'une Cyanophycée, *Phormidium autumnale* (Ag.) Gom. en association avec des bactéries, culture âgée de deux mois. A peu près demi-grandeur naturelle. Phot. de F. Lambert, Bruxelles.

# SUR L'AGGLUTINATION DES MICROBES IMMOBILES

## PAR LES SÉRUMS NORMAUX

par L. NÈGRE et M. RAYNAUD

(Institut Pasteur d'Algérie et Clinique médicale  
de la Faculté de médecine d'Alger).

Certains auteurs ont émis l'idée que le degré d'agglutination d'un microbe était fonction de sa mobilité et dépendait par conséquent de la richesse de son revêtement cilié. Ce n'est qu'une hypothèse puisque les phénomènes d'agglutination appartiennent tout aussi bien aux microbes immobiles qu'aux microbes mobiles. Les épreuves du sérodiagnostic sont utilisées, dans la pratique courante, pour les uns comme pour les autres, et, jusqu'à présent, aucun fait expérimental, pouvant établir une différence, au point de vue de l'agglutination, entre les deux groupes de microbes, n'a été mis en évidence.

Nous nous proposons dans ce travail de démontrer que les microbes mobiles et les microbes immobiles ne se comportent pas de la même façon dans les phénomènes d'agglutination et d'en tirer les conclusions pratiques que ces recherches comportent au point de vue des épreuves du sérodiagnostic.

I. — Dans nos recherches sur l'agglutination du *M. melitensis* nous nous sommes rendus compte que ce microbe se laissait facilement agglutiner par les sérums normaux.

Nous entendons par sérum normal un sérum qui n'a pas d'agglutinine spécifique pour un microbe déterminé.

Nous nous sommes servis, dans nos expériences, d'émulsions en eau physiologique, de cultures sur gélose de quatre à cinq jours, filtrées sur papier.

Au 1/30, à 37 degrés, avec le sérum normal humain, l'agglutination peut se produire quelquefois dès la première heure. On peut toujours la constater au microscope, au bout de quatre à cinq heures, et souvent à l'œil nu, sous la forme d'une multitude de petits agglutinats.

Au 1/30, à la température du laboratoire, l'agglutination dans les cinq premières heures est fréquente, mais elle se pro-



duit avec moins de régularité qu'à 37 degrés. Elle a toujours lieu de six à douze heures après et peut être constatée microscopiquement et souvent même macroscopiquement.

Au 1/50, à 37 degrés, il y a souvent un début d'agglutination au bout de cinq à six heures et, à la température du laboratoire, au bout de douze à vingt-quatre heures. Cette agglutination ne se produit pas avec la même régularité qu'avec la dilution au 1/30, et, quand elle existe, on ne peut la voir qu'au microscope sous la forme de très petits amas.

Au 1/100, nous n'avons trouvé que plus rarement une agglutination par les sérums normaux. Mais dans quelques cas nous avons pu l'observer microscopiquement au bout de quatre ou cinq heures.

Le pouvoir agglutinant des sérums normaux, vis-à-vis du *Micrococcus melitensis*, est supprimé par le chauffage à 56 degrés, pendant trente minutes. Il disparaît aussi par le vieillissement au bout d'une huitaine de jours à la température du laboratoire.

Il y a donc pour le *M. melitensis* deux sortes d'agglutinations :

1° Une agglutination *non spécifique* par les sérums normaux. Dans cette agglutination non spécifique, le pouvoir agglutinant est supprimé par un chauffage de trente minutes à 56 degrés ;

2° Une agglutination *spécifique*, dans laquelle le pouvoir agglutinant résiste à ce chauffage, comme nous avons pu nous en convaincre nous-mêmes après d'autres expérimentateurs.

Ces résultats ne sont pas propres à une espèce unique.

Nous avons pu constater que d'autres microbes immobiles tels que le staphylocoque, le tétragène, le pneumocoque se laissent agglutiner par les sérums normaux.

Pour ces derniers microbes, comme pour le *M. melitensis*, nous avons trouvé dans les sérums humains examinés deux sortes d'agglutinations :

1° Une agglutination *spécifique* avec des agglutinines résistant à un chauffage de trente minutes à 56 degrés. Nous l'avons observée fréquemment dans les sérums que nous avons étudiés. Cela n'a rien d'étonnant : ces microbes sont des hôtes banaux de notre organisme et peuvent provoquer des affections à type septicémique qui donnent lieu à la formation d'agglutinines ;

2° Une agglutination *non spécifique*, où le pouvoir agglutinant disparaît comme pour le *M. melitensis* par un chauffage du sérum à 56 degrés, pendant trente minutes.

Pour ces microbes, les agglutinations non spécifiques se produisaient, comme pour le *M. melitensis*, à des taux variant entre le 1/20 et le 1/40, et étaient constatées microscopiquement au bout de trois ou quatre heures de contact à la température du laboratoire.

Les sérums examinés ont présenté un pouvoir agglutinant non spécifique tantôt sur tous les microbes, tantôt sur deux, tantôt sur un seulement, sans qu'il soit possible de dire à quelle règle obéissent ces variations.

II. — Nous avons cependant recherché les conditions dans lesquelles cette agglutination *non spécifique* se produisait le plus fréquemment.

Pour cela, nous avons étudié comparativement l'action agglutinante du sérum d'individus apyrétiques et d'individus fébricitants sur ces microbes.

Pour le *M. melitensis*, sur 39 sérums examinés, 8 ont donné une agglutination partielle au 1/100; 14 ont donné une agglutination au 1/50; 17 n'ont donné aucune agglutination.

Les résultats étaient observés microscopiquement après un séjour de quatre heures à la température du laboratoire.

Les sérums se répartissent ainsi :

|                        |    | NOMBRE DE SÉRUMS<br>agglutinants. |
|------------------------|----|-----------------------------------|
| Typhiques . . . . .    | 18 | 11 soit 61 p. 100                 |
| Fébricitants . . . . . | 11 | 6 soit 54 —                       |
| Apyrétiques . . . . .  | 10 | 5 soit 50 —                       |

Pour les autres microbes, staphylocoque, tétragène, pneumocoque, nous avons obtenu les résultats suivants :

|                         |                          | NOMBRE DE SÉRUMS<br>agglutinants. |
|-------------------------|--------------------------|-----------------------------------|
| Staphylocoque . . . . . | { Fébricitants . . . . . | 19                                |
|                         | { Apyrétiques . . . . .  | 9                                 |
| Tétragène . . . . .     | { Fébricitants . . . . . | 19                                |
|                         | { Apyrétiques . . . . .  | 9                                 |
| Pneumocoque! . . . . .  | { Fébricitants . . . . . | 6                                 |
|                         | { Apyrétiques . . . . .  | 10                                |
|                         |                          | 10 soit 52 p. 100                 |
|                         |                          | 4 soit 44 —                       |
|                         |                          | 10 soit 52 p. 100                 |
|                         |                          | 2 soit 22 —                       |
|                         |                          | 4 soit 66 p. 100                  |
|                         |                          | 6 soit 60 —                       |

*Ces résultats montrent que le pouvoir agglutinant non spé-*

*cifique du sérum humain sur ces microbes est plus fréquent dans les états fébriles qu'à l'état normal.*

III. — La suppression de ce pouvoir agglutinant par un chauffage à 56 degrés de ces sérums et par leur vieillissement, sa constatation plus fréquente dans les états fébriles où le pouvoir alexique augmente, permettent de supposer que ce pouvoir agglutinant est sous la dépendance de l'alexine et peut-être en relation avec la teneur en alexine de ces sérums.

Pour vérifier s'il y avait une relation entre le pouvoir agglutinant et la teneur en alexine, nous avons titré le pouvoir alexique de tous les sérums examinés en même temps que leur pouvoir agglutinant.

Pour le titrage de l'alexine, des quantités croissantes de la dilution du sérum au 1/10 étaient mises dans une quantité fixe de 3 centimètres cubes d'eau physiologique en présence de 3 gouttes de sérum hémolytique et de 2 gouttes de globules de chèvre lavés. La lecture des résultats était faite après trente minutes de séjour à l'étuve à 37 degrés et revisée après deux heures à la température du laboratoire.

Nous n'avons trouvé aucune concordance entre la teneur en alexine des sérums et leur pouvoir agglutinant. Certains ont présenté un pouvoir alexique très élevé sans donner d'agglutination et d'autres avec un pouvoir alexique très faible agglutinaient le *melitensis* jusqu'au 1/100.

Le pouvoir agglutinant des sérums ne paraissant pas en rapport avec leur pouvoir alexique, nous avons voulu vérifier si l'alexine n'agirait pas uniquement en se fixant sur une substance inconnue de ces sérums. Cette substance ne serait pas détruite à 56 degrés, mais aurait besoin, pour provoquer l'agglutination, du concours de l'alexine.

Nous avons pour cela essayé de réactiver des sérums qui avaient présenté un pouvoir agglutinant et qui l'avaient perdu par le chauffage à 56 degrés, à l'aide d'une alexine provenant d'un sérum non agglutinant.

Dans ces conditions, nous n'avons pas pu rendre ses propriétés agglutinantes au sérum chauffé.

Si ce pouvoir agglutinant des sérums normaux n'est pas en relation directe avec leur teneur en alexine, a-t-il un rapport



avec la destruction leucocytaire, comme Ch. Nicolle en a émis l'hypothèse? Il a constaté la fréquence du pouvoir agglutinant sur le *M. melitensis* des sérums de malades atteints de typhus exanthématique, affection dans laquelle la destruction leucocytaire est intense, et il a supposé que ce pouvoir agglutinant non spécifique devait être produit par les diastases mises en liberté par les leucocytes détruits.

Nous-mêmes, nous avons constaté le plus fréquemment l'agglutination du *M. melitensis* dans la fièvre typhoïde, où l'hypoleucocytose est la règle. Il nous a donc semblé qu'il pouvait y avoir, selon la remarque de Ch. Nicolle, une relation entre la destruction leucocytaire et la production du pouvoir agglutinant, bien que nous ayons constaté cette agglutination dans d'autres affections fébriles à hyperleucocytose.

Nous avons voulu vérifier cette hypothèse en étudiant sur le *M. melitensis* le pouvoir agglutinant d'échantillons de sang pour lesquels nous avions pratiqué la numération leucocytaire.

| AGGLUTINATION              | NOMBRE<br>des<br>leucocytes. | POLY-<br>NUCLÉAIRES | MONONU-<br>CLÉAIRES | LYMPHO-<br>CYTES | ÉOSINO-<br>PHILES | TRANSI-<br>TION |
|----------------------------|------------------------------|---------------------|---------------------|------------------|-------------------|-----------------|
| Positive au 1/30 . . . . . | 3.900                        | 69                  | 19                  | 7 »              | 0                 | 5 »             |
| Négative . . . . .         | 13.700                       | 68                  | 10                  | 18 »             | 1                 | 3 »             |
| Positive au 1/50 . . . . . | 4.760                        | 65                  | 17                  | 13 »             | 0                 | 5 »             |
| Positive au 1/40 . . . . . | 8.660                        | 58                  | 6                   | 30 »             | 1                 | 5 »             |
| Négative . . . . .         | 17.600                       | 84                  | 5                   | 3 »              | 0                 | 8 »             |
| Négative . . . . .         | 6.000                        | 68                  | 24                  | 3 »              | 0                 | 5 »             |
| Négative . . . . .         | 2.500                        | 66                  | 23                  | 7 »              | 0                 | 4 »             |
| Positive au 1/50 . . . . . | 12.800                       | 83                  | 4                   | 11,5             | 0                 | 1,5             |
| Négative . . . . .         | 6.400                        | 73                  | 13                  | 12 »             | 0                 | 2 »             |

Comme le montre le tableau ci-joint il ne paraît pas y avoir de relation entre l'état d'hypoleucocytose et la propriété agglutinante des sérums; pas de relation non plus avec la prédominance de l'un des éléments leucocytaires.

Tels sont les résultats que nous avons obtenus dans l'étude du pouvoir agglutinant des sérums normaux sur certains microbes immobiles, choisis parmi ceux pour lesquels l'épreuve de l'agglutination est le plus souvent pratiquée. De ces recherches nous pouvons tirer les conclusions suivantes :

1° Les microbes immobiles se laissent agglutiner aux taux faibles de 1/20 à 1/50 par les sérums normaux (agglutination microscopique constatée rarement dans les deux premières heures de l'expérience, le plus souvent trois ou quatre heures après);



2° C'est un pouvoir agglutinant *non spécifique*, puisqu'il est détruit par un chauffage de trente minutes à 56 degrés;

3° Ce pouvoir agglutinant est plus fréquent dans les états fébriles qu'à l'état normal;

4° Il ne paraît pas en relation avec la teneur en alexine des sérums;

5° Il ne paraît pas dépendre de la destruction leucocytaire.

Pour les microbes mobiles, typhique, paratyphique, coli et vibron cholérique, nous n'avons rien trouvé de pareil.

Toutes les fois qu'un sérum présente un pouvoir agglutinant, même léger sur un de ces microbes, il est impossible de le faire disparaître par un chauffage de trente minutes à 56 degrés.

Faut-il en conclure que c'est un pouvoir agglutinant spécifique? C'est probable, car ces agglutinines résistent toujours à un chauffage de 30 minutes à 63-65 degrés au moins.

En tout cas, pour les microbes mobiles, typhique, paratyphique, coli, v. cholérique, il n'y a pas de pouvoir agglutinant disparaissant, comme pour les microbes précédents, par un chauffage de 30 minutes à 56 degrés.

Il y a donc là un caractère différentiel net entre le groupe des microbes mobiles et celui des microbes immobiles.

Il nous est impossible de voir actuellement les conclusions qu'on peut en tirer au point de vue de l'explication du mécanisme de l'agglutination.

Nous nous bornons, dans ce travail, à constater ce fait expérimental et à en tirer les conséquences qu'il comporte au point de vue de la pratique de l'épreuve du sérodiagnostic.

*Nous considérons comme essentiel, chaque fois qu'il s'agit de faire un sérodiagnostic avec un microbe immobile, de chauffer préalablement le sérum à 56 degrés pendant trente minutes.*

Cette précaution évitera, d'après les constatations que nous avons pu faire nous-mêmes, de nombreuses causes d'erreur.

Il était d'autant plus intéressant d'attirer l'attention des expérimentateurs sur ces causes d'erreur qu'elles sont plus fréquentes dans les affections fébriles, où les épreuves du sérodiagnostic sont presque exclusivement pratiquées.

---

Le Gérant : G. MASSON.